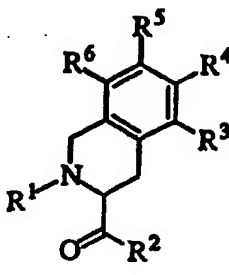
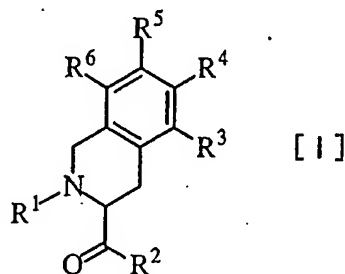




(51) 国際特許分類6 C07D 217/26, C07K 5/065, 5/068, 5/078, 5/097, C12P 21/02, A61K 31/47, 38/55, 38/06, 38/05 // (C12P 21/02, C12R 1:66)	A1	(11) 国際公開番号 WO98/18763 (43) 国際公開日 1998年5月7日(07.05.98)
(21) 国際出願番号 PCT/JP97/03804 (22) 国際出願日 1997年10月22日(22.10.97) (30) 優先権データ 特願平8/284328 1996年10月25日(25.10.96) JP (71) 出願人 (米国を除くすべての指定国について) 田辺製薬株式会社(TANABE SEIYAKU CO., LTD.)(JP/JP) 〒541 大阪府大阪市中央区道修町3丁目2番10号 Osaka, (JP) (72) 発明者 ; および (75) 発明者 / 出願人 (米国についてのみ) 杉田尚久(SUGITA, Takahisa)(JP/JP) 〒631 奈良県奈良市西登美ヶ丘3丁目3番9号 Nara, (JP) 大貫哲男(OHNUKI, Tetsuo)(JP/JP) 〒340-01 埼玉県幸手市香日向3丁目8番3号 Saitama, (JP) 山田昌樹(YAMADA, Masaki)(JP/JP) 〒560 大阪府豊中市上野坂1丁目19番13号 Osaka, (JP) 田中澄子(TANAKA, Sumiko)(JP/JP) 〒553 大阪府大阪市福島区玉川2丁目4番2号 Osaka, (JP) 野中信明(NONAKA, Nobuaki)(JP/JP) 〒335 埼玉県戸田市笹目4丁目39番10号 グリーンハイツ202 Saitama, (JP)		浅井康行(ASAI, Yasuyuki)(JP/JP) 〒336 埼玉県浦和市三室2250 グランパレス弥生103号室 Saitama, (JP) (74) 代理人 弁理士 青山 葆, 外(AOYAMA, Tamotsu et al.) 〒540 大阪府大阪市中央区城見1丁目3番7号 IMPビル 青山特許事務所 Osaka, (JP) (81) 指定国 AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CU, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, GB, GE, GH, HU, ID, IL, IS, KE, KG, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZW, ARIPO特許 (GH, KE, LS, MW, SD, SZ, UG, ZW), ユーラシア特許 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), 欧州特許 (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI特許 (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, ML, MR, NE, SN, TD, TG). 添付公開書類 国際調査報告書
(54)Title: TETRAHYDROISOQUINOLINE DERIVATIVES (54)発明の名称 テトラヒドロイソキノリン誘導体 <div style="text-align: center;">  <p>(I)</p> </div> (57) Abstract Medicinal compositions containing as the active ingredient compounds having an inhibitory effect on dipeptidyl-peptidase IV and having the tetrahydroisoquinoline skeleton, for example, tetrahydroisoquinoline derivatives represented by general formula (I) and the tetrahydroisoquinoline derivatives, wherein R ¹ represents (1) a group having the structure of an amino acid with optionally substituted amino from which the hydroxy atomic group in the carboxy atomic group has been eliminated, or (2) an amino protective group; R ² represents (1) optionally protected hydroxy, (2) having the structure of an amino acid with an optionally protected carboxy atomic group from which a hydrogen atom in the amino atomic group has been eliminated, or (3) a group having the structures of a primary or secondary amine or ammonia from which a hydrogen atom on the nitrogen atom has been eliminated; and R ³ , R ⁴ , R ⁵ and R ⁶ are the same or different and each represents hydrogen hydroxy or lower alkoxy.		

(57) 要約

ジペプチジルペプチダーゼ I V 阻害作用を有し、テトラヒドロイソキノリン骨格を有する化合物、例えば、一般式 [I] :



(式中、R¹は(1)アミノ基が保護されていてもよいアミノ酸からカルボキシ原子団のヒドロキシ原子団を取り去った構造を有する基又は(2)アミノ基の保護基、R²は(1)保護されていてもよい水酸基、(2)カルボキシ原子団が保護されていてもよいアミノ酸からアミノ原子団の水素原子を1つ取り去った構造を有する基又は(3)1級もしくは2級アミン又はアンモニアから窒素原子上の水素原子を1つ取り去った構造を有する基、R³、R⁴、R⁵及びR⁶は同一又は異なって水素原子、水酸基又は低級アルコキシ基を表す)で示されるテトラヒドロイソキノリン誘導体を有効成分としてなる医薬組成物及びテトラヒドロイソキノリン誘導体[I]。

PCTに基づいて公開される国際出願のパンフレット第一頁に掲載されたPCT加盟国を同定するために使用されるコード (参考情報)

AL	アルバニア	FI	フィンランド	LT	リトアニア	SN	セネガル
AM	アルメニア	FR	フランス	LU	ルクセンブルグ	SZ	スワジランド
AT	オーストリア	GA	ガボン	LV	ラトヴィア	TD	チャード
AU	オーストラリア	GB	英国	MC	モナコ	TG	トーゴ
AZ	アゼルバイジャン	GE	グルジア	MD	モルドヴァ	TJ	タジキスタン
BA	ボスニア・ヘルツェゴビナ	GH	ガーナ	MG	マダガスカル	TM	トルクメニスタン
BB	バルバドス	GM	ギンニア	MK	マケドニア旧ユーゴスラヴィア共和国	TR	トルコ
BE	ベルギー	GN	ギニア・ビサウ			TT	トリニダード・トバゴ
BF	ブルキナ・ファソ	GR	ギリシャ	ML	マリ	UA	ウクライナ
BG	ブルガリア	GU	グアム	MN	モンゴル	UG	ウガンダ
BJ	ベナン	HD	ハンガリー	MR	モリタニア	US	米国
BR	ブラジル	IE	アイルランド	MW	マラウイ	UZ	ウズベキスタン
BY	ベラルーシ	IL	イスラエル	MX	メキシコ	VN	ヴェトナム
CA	カナダ	IS	イスラエル	NE	ニジェール	YU	ユーゴスラヴィア
CC	中央アフリカ	IT	イタリア	NL	オランダ	ZW	ジンバブエ
CG	コンゴ共和国	JP	日本	NO	ノルウェー		
CH	スイス	KE	ケニア	NZ	ニュージーランド		
CI	コートジボアール	KP	北朝鮮	PL	ポーランド		
CM	カメルーン	KR	韓国	PT	ポルトガル		
CN	中国	KZ	カザフスタン	RO	ルーマニア		
CU	キューバ	LC	セント・ルシア	RU	ロシア		
CY	キプロス	LI	リヒテンシュタイン	SE	スウェーデン		
CZ	チェコ	LK	スリランカ	SG	シンガポール		
DE	ドイツ	LS	レソト	SI	スロベニア		
DK	デンマーク			SK	スロバキア		
EE	エストニア			SL	シエラレオネ		
ES	スペイン						

明 細 書

テトラヒドロイソキノリン誘導体

技術分野

本発明は、ジペプチジルペプチダーゼⅣ阻害作用を有し、かつテトラヒドロイソキノリン骨格を有する化合物を有効成分としてなる医薬組成物並びに新規テトラヒドロイソキノリン誘導体及びその製法に関する。

背景技術

ジペプチジルペプチダーゼⅣは、ポリペプチド鎖の遊離N末端からX-Pro (Xはいかなるアミノ酸であってもよい)のジペプチドを特異的に加水分解するセリンプロテアーゼの1種である。免疫系細胞においてはT細胞の活性化にともなって発現が誘導され、T細胞の活性化と増殖に重要な役割をはたしている(ヨーロッパ・ジャーナル・オブ・イミュノロジー(European Journal of Immunology)、17巻、1821-1826頁、1987年;バイオロジカル・ケミストリー・ホッパーセイラー(Biological Chemistry Hoppe-Seyler)、371巻、699-705頁、1990年)。すなわち、ジペプチジルペプチダーゼⅣを抗体や阻害物質によってブロックするとT細胞の活性化が抑制される。また、コラーゲン代謝異常や免疫異常疾患において本酵素と病態との関連性に興味をもたれている。たとえば、リウマチ患者においては末梢血T細胞のジペプチジルペプチダーゼⅣ陽性率が上昇しており、腎炎患者尿中には高いジペプチジルペプチダーゼⅣ活性が検出される。

公知のジペプチジルペプチダーゼⅣ阻害化合物の例としては、トリペプチドで

あるジプロチンA(L-イソロイシル-L-プロリル-L-イソロイシン)、ジプロチンB(L-バリル-L-プロリル-L-ロイシン)並びにジプロチンC(L-バリル-L-プロリル-L-イソロイシン)(特開昭59-25366号)、Ala-Pro-ニトロベンゾイルヒドロキシルアミン(ジャーナル・オブ・エンザイム・インヒビション(Journal of Enzyme Inhibition)、2巻、129-142頁、1988年)、Ala-boroPro並びにPro-boroPro(但し、boroProはプロリンのカルボキシル基が $B(OH)_2$ 基と置換された化合物を示す)(プロシーディングズ・オブ・ザ・ナショナル・アカデミー・オブ・サイエンス・オブ・ザ・ユナイテッド・ステイツ・オブ・アメリカ(Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America)、88巻、1556-1559頁、1991年)及びLys-(Z(NO₂))-チアゾリジン(但し、Z(NO₂)は4-ニトロベンジルオキシカルボニル基を示す)(バイオロジカル・ケミストリー・ホッパーセイラー(Biological Chemistry Hoppe-Seyler)、372巻、305-311頁、1991年)が知られている。しかしながら、テトラヒドロイソキノリン骨格を有するジペプチジルペプチダーゼIV阻害化合物は知られていない。

発明の開示

本発明は、優れたジペプチジルペプチダーゼIV阻害作用活性を有する化合物及びそれら化合物を有効成分としてなる医薬組成物を提供するものである。

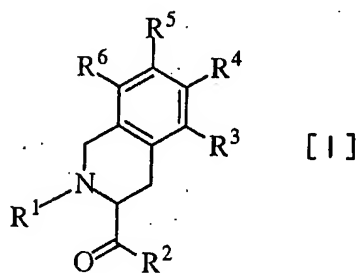
本発明者らは、主に土壌から分離した微生物の培養物を検討していたところ、アスペルギルス属のカビの培養液中にジペプチジルペプチダーゼIV阻害活性を示す

化合物が生産されることを見出した。これらの化合物を当該培養液から単離・精製し、その物理化学的性質を検討して化学構造を決定したところ、これらが新規化合物であることが判明した。

また一方、本発明者らは、ジペプチジルペプチダーゼ I V を阻害すれば T 細胞の活性化を特異的に抑制でき、慢性関節リウマチやアレルギーなど T 細胞の活性化が関与する免疫異常症や免疫不全症を予防・治療できるのではないかと考え、鋭意研究を重ねた結果、前述の微生物由来の化合物を含めテトラヒドロイソキノリン骨格を有する一連の化合物がジペプチジルペプチダーゼ I V 阻害作用を有しており、自己免疫疾患(関節炎、慢性関節リウマチ等)の予防・治療に有効であるとの新たな知見を得、該知見に基づき本発明を完成するに至った。

すなわち、本発明は、ジペプチジルペプチダーゼ I V 阻害作用を有し、かつテトラヒドロイソキノリン骨格を有する化合物又はその薬理的に許容しうる塩を有効成分としてなる医薬組成物を提供するものである。

また、本発明は一般式 [I] :

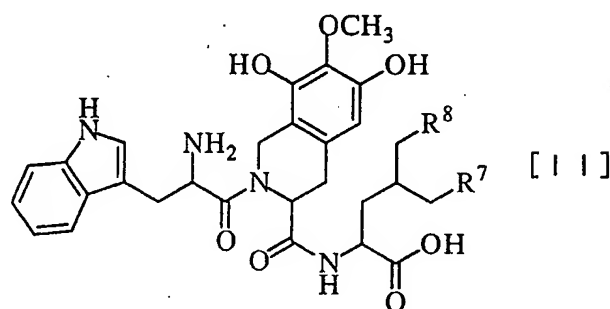


(式中、R¹は(1)アミノ原子団が保護されていてもよいアミノ酸からカルボキシ原子団のヒドロキシ原子団を取り去った構造を有する基又は(2)アミノ基の保護基、R²は(1)保護されていてもよい水酸基、(2)カルボキシ原子団が保護されていてもよいアミノ酸からアミノ原子団の水素原子を1つ取り去った構造を有する基又は(3)1級もしくは2級アミン又はアンモニアから窒素原子上の水素原子を1つ

取り去った構造を有する基、 R^3 、 R^4 、 R^5 及び R^6 は同一又は異なって水素原子、水酸基又は低級アルコキシ基を表す)

で示される新規テトラヒドロイソキノリン誘導体又はその薬理的に許容しうる塩、さらには、これら化合物の製法を提供するものである。

さらに、本発明は、下記の一般式[I I]:



(式中、 R^7 及び R^8 は一方が水酸基、他方が水素原子又は水酸基を表す)

で示されるテトラヒドロイソキノリン誘導体又はその薬理的に許容しうる塩を提供するものである。上記一般式[I I]において R^7 及び R^8 が水酸基である化合物を以下、TMC-2 Aといい、 R^7 が水酸基、 R^8 が水素原子である化合物を以下、TMC-2 Bといい、 R^7 が水素原子、 R^8 が水酸基である化合物を以下、TMC-2 Cという。

本発明はまた、これらTMC-2 A、TMC-2 B及びTMC-2 Cの微生物による製造法を提供するものである。

図面の簡単な説明

図1はTMC-2 AのUVスペクトルである。

図2はTMC-2 BのUVスペクトルである。

図3はTMC-2 CのUVスペクトルである。

図4はTMC-2 AのIRスペクトルである。

図5はTMC-2 BのIRスペクトルである。

図6はTMC-2CのIRスペクトルである。

図7はTMC-2Aの ^1H -NMRスペクトルである。

図8はTMC-2Bの ^1H -NMRスペクトルである。

図9はTMC-2Cの ^1H -NMRスペクトルである。

図10はTMC-2Aの ^{13}C -NMRスペクトルである。

図11はTMC-2Bの ^{13}C -NMRスペクトルである。

図12はTMC-2Cの ^{13}C -NMRスペクトルである。

図13はTMC-2Aのラットアルキルジアミン誘発関節炎に対する抑制効果を示す線図である。

Cont(-)：アルキルジアミンを投与しなかった対照群

Cont(+): アルキルジアミンを投与した対照群

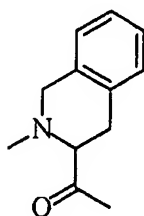
図14はTMC-2A及び実施例13の化合物のラットアジュバンド誘発関節炎に対する抑制効果を示す線図である。

Cont(-)：結核菌加熱死菌を投与しなかった対照群

Cont(+): 結核菌加熱死菌を投与した対照群

発明を実施するための最良の形態

本発明の医薬組成物としては、ジペプチジルペプチダーゼIV阻害作用を有し、かつテトラヒドロイソキノリン骨格を有する化合物又はその薬理的に許容しうる塩を有効成分としてなる医薬組成物があげられる。具体的には、ジペプチジルペプチダーゼIV阻害活性を有し、かつ式：



で示される部分構造を含む化合物又はその薬理的に許容しうる塩を有効成分としてなる医薬組成物があげられる。また、さらには、一般式[I]で示されるテトラヒドロイソキノリン誘導体又はその薬理的に許容しうる塩を有効成分としてなる医薬組成物があげられる。

本発明の医薬組成物は、ジペプチジルペプチダーゼ I V 阻害剤、さらには自己免疫疾患の予防・治療剤、とりわけ関節炎の予防・治療剤、慢性関節リウマチの予防・治療剤として有用である。

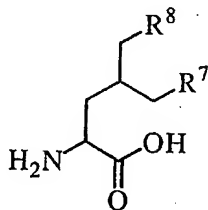
本発明のテトラヒドロイソキノリン誘導体としては、一般式[I]で示される化合物があげられる。

また、本発明のテトラヒドロイソキノリン誘導体[I]又はその薬理的に許容しうる塩は、優れたジペプチジルペプチダーゼ I V 阻害作用するので、ジペプチジルペプチダーゼ I V 阻害剤として有用である。さらに、テトラヒドロイソキノリン誘導体[I]又はその薬理的に許容しうる塩は、優れた自己免疫疾患の予防・治療作用を有し、自己免疫疾患の予防・治療剤、とりわけ、関節炎の予防・治療剤、慢性関節リウマチの予防・治療剤として有用である。

一般式[I]で示される化合物において、好ましい化合物としては、R¹が(1)アリールオキシカルボニル基、アリール基置換低級アルコキシカルボニル基もしくは低級アルコキシカルボニル基でアミノ原子団が保護されていてもよいアミノ酸からカルボキシ原子団のヒドロキシ原子団を取り去った構造を有する基又は(2)アリールオキシカルボニル基、アリール基置換低級アルコキシカルボニル基もしくは低級アルコキシカルボニル基、R²が(1)アリール基置換低級アルキル基で置換されていてもよい水酸基、(2)低級アルキルもしくはアリール基置換低級アルキルでカルボキシ原子団が保護されていてもよいアミノ酸からアミノ原子団の水素原子を1つ取り去った構造を有する基又は(3)低級アルキル又はアリール置換低級アルキルか

ら選ばれる基1つもしくは2つで置換されていてもよいアミノ基、 R^3 、 R^4 、 R^5 及び R^6 が同一又は異なって水素原子、水酸基又は低級アルコキシ基があげられる。

このうち、より好ましい化合物としては、 R^1 が(1)ベンジルオキシカルボニル基もしくはtert-ブトキシカルボニル基でアミノ原子団が保護されていてもよいトリプトフィル基、リジル基もしくはフェニルアラニル基又は(2)ベンジルオキシカルボニル基もしくはtert-ブトキシカルボニル基、 R^2 が(1)ベンジル基で保護されていてもよい水酸基、(2)メチル基もしくはベンジル基でカルボキシ原子団が保護されていてもよい、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、プロリン、フェニルアラニン、トリプトファン、メチオニン、グリシン、セリン、O-ベンジルセリン、トレオニン、システイン、グルタミン、アスパラギン、チロシン、リジン、アルギニン、ヒスチジン、アスパラギン酸、グルタミン酸及び式：



(式中、 R^7 及び R^8 は上記と同一意味を有する)

から選ばれる α -アミノ酸の α -アミノ原子団の水素原子を一つ取り去った構造を有する基又は(3)tert-ブチル基又はベンジル基から選ばれる基1つもしくは2つで置換されてもよいアミノ基、 R^3 が水素原子又は低級アルコキシ基、 R^4 が水素原子又は水酸基、 R^5 が水素原子又は低級アルコキシ基、 R^6 が水素原子、水酸基又は低級アルコキシ基である化合物があげられる。

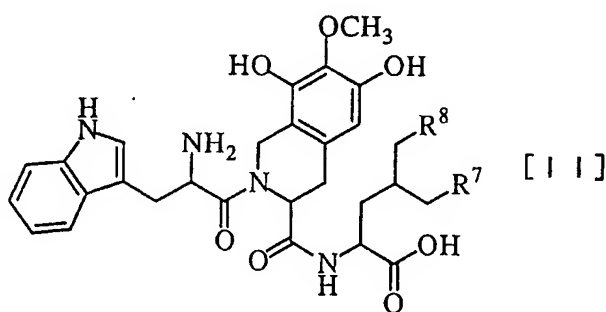
さらに、薬効上好ましい化合物としては、 R^1 がトリプトフィル基、 R^2 が(1)水酸基、(2)アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、プロリン、フェニルア

ラニン、トリプトファン、メチオニン、グリシン、セリン、トレオニン、システイン、グルタミン、アスパラギン、チロシン、リジン、アルギニン、ヒスチジン、アスパラギン酸及びグルタミン酸から選ばれる α -アミノ酸から α -アミノ原子団の水素原子を1つ取り去った構造を有する基又は(3)アミノ基、 R^3 、 R^4 、 R^5 及び R^6 が水素原子である化合物があげられる。

また、これらのうち、薬効上、より好ましい化合物としては、 R^1 がトリプトフィル基、 R^2 が(1)水酸基、(2)グルタミン、セリン、アスパラギン酸、グルタミン酸、アラニン、システイン、アルギニン、メチオニン及びアスパラギンから選ばれる α -アミノ酸から α -アミノ原子団の水素原子を1つ取り去った構造を有する基又は(3)アミノ基、 R^3 、 R^4 、 R^5 及び R^6 が水素原子である化合物があげられる。

さらに、とりわけ薬効上好ましい化合物としては、2-L-トリプトフィル-1, 2, 3, 4-テトラヒドロイソキノリル-3-カルボン酸があげられる。

また、薬効上好ましい別の化合物としては、TMC-2A、TMC-2BもしくはTMC-2C、即ち、一般式[II]：

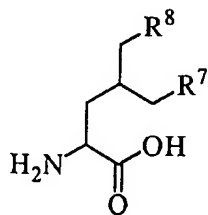


(式中、 R^7 及び R^8 は上記と同一意味を有する)

で示される化合物があげられる。

本明細書中、アミノ酸としては、L体、D体及びそれらの混合物のいずれも含み、例えば、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、プロリン、フェニルア

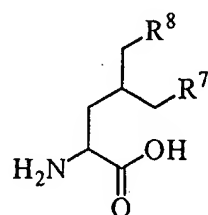
ラニン、トリプトファン、メチオニン、グリシン、セリン、トレオニン、システイン、グルタミン、アスパラギン、チロシン、リジン、アルギニン、ヒスチジン、アスパラギン酸及びグルタミン酸等のタンパク質構成 α -アミノ酸、ノルロイシン、 α -アミノ酪酸、 γ -アミノ酪酸、 β -アミノイソ酪酸、 β -アラニン、ホモセリン、 α -メチルセリン、O-ベンジルセリン、O-カルバミルセリン及び δ -ヒドロキシ- γ -オキソノルバリン等の脂肪族モノアミノカルボン酸、 α -アミノアジピン酸、テアニン、 γ -メチレングルタミン酸及び γ -メチルグルタミン酸等のモノアミノジカルボン酸、オルニチン、 β -リジン、 α 、 β -ジアミノプロピオン酸及び α 、 γ -ジアミノ酪酸等のジアミノモノカルボン酸、ジアミノピメリン酸等のジアミノジカルボン酸、システイン酸等の含スルホン酸アミノ酸、チロニン、キヌレニン及び3,4-ジオキシフェニルアラニン等の芳香族アミノ酸、アジリジン-2,3-ジカルボン酸、2-アミノ-3-(イソオキサゾリン-5-オン-4-イル)プロピオン酸及びアンチカプシン等の複素環アミノ酸、4-オキサリジン、4-オキソリジン及び3,6-ジアミノ-5-ヒドロキシヘキサン酸等の塩基性アミノ酸、シスタチオン、ランチオニン及びS-メチルシステイン等の含硫アミノ酸、ピペコリン酸、アゼチジン-2-カルボン酸及び2-アミノシクロペンタン-1-カルボン酸等の環状アミノ酸、及びシトルリン、アラノシン及びアザセリン等の特殊官能基置換アミノ酸等、さらには、式：



(式中、 R^7 及び R^8 は上記と同一意味を有する)

で示されるものがあげられる。

このうち好ましいものとしては、例えば、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、プロリン、フェニルアラニン、トリプトファン、メチオニン、グリシン、セリン、O-ベンジルセリン、トレオニン、システイン、グルタミン、アスパラギン、チロシン、リジン、アルギニン、ヒスチジン、アスパラギン酸及びグルタミン酸等の α -アミノ酸及び式：



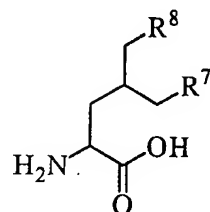
(式中、 R^7 及び R^8 は上記と同一意味を有する)

で示されるものがあげられる。

本明細書中、 R^1 における「アミノ酸からカルボキシ原子団のヒドロキシ原子団を取り去った構造を有する基」としては、例えば、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、プロリン、フェニルアラニン、トリプトファン、メチオニン、グリシン、セリン、トレオニン、システイン、グルタミン、アスパラギン、チロシン、リジン、アルギニン、ヒスチジン、アスパラギン酸、グルタミン酸等の α -アミノ酸から α -カルボキシ原子団のヒドロキシ原子団を取り去った構造を有する基、即ち、アラニル基、バリル基、ロイシル基、イソロイシル基、プロリル基、フェニルアラニル基、トリプトフィル基、メチオニル基、グリシル基、セリル基、トレオニル基、システイニル基、グルタミル基、アスパラギニル基、チロシル基、リジル基、アルギニル基、ヒスチジル基、アスパルチル基及びグルタミニル基があげられる。このうち、好ましい例としてはトリプトフィル基、リジル基及びフェニルアラニル基があげられ、特に好ましい例としてはトリプトフィル基があげられる。

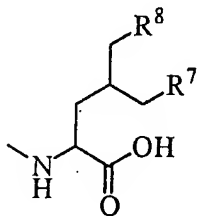
また、 R^2 における「カルボキシ原子団が保護されていてもよいアミノ酸からア

ミノ原子団の水素原子を1つ取り去った構造を有する基」としては、例えば、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、プロリン、フェニルアラニン、トリプトファン、メチオニン、グリシン、セリン、トレオニン、システイン、グルタミン、アスパラギン、チロシン、リジン、アルギニン、ヒスチジン、アスパラギン酸、グルタミン酸、イソロイシンメチルエステル、O-ベンジル-セリンベンジルエステル、さらには、式：



(式中、R⁷及びR⁸は上記と同一意味を有する)

で示されるアミノ酸の如きα-アミノ酸からα-アミノ原子団の水素原子を1つ取り去った構造を有する基があげられる。このうち、好ましい例としてはグルタミン、セリン、アスパラギン酸、グルタミン酸、アラニン、システイン、アルギニン、メチオニン及びアスパラギンのα-アミノ原子団の水素原子を1つ取り去った構造を有する基、より好ましい例としては、グルタミン及びセリンのα-アミノ原子団の水素原子を1つ取り去った構造を有する基があげられる。また、別の好ましい例としては、式：



(式中、R⁷及びR⁸は上記と同一意味を有する)

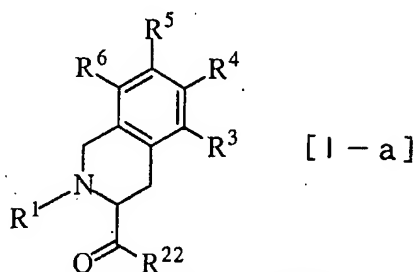
で示される基があげられる。

R²における「1級もしくは2級アミン又はアンモニアから窒素原子上の水素原子を1つ取り去った構造を有する基」としては、例えば、低級アルキル又はアリール置換低級アルキルから選ばれる基1つもしくは2つで置換されていてもよいアミノ基があげられ、このうち好ましくは、tert-ブチル基又はベンジル基から選ばれる基1つもしくは2つで置換されてもよいアミノ基があげられる。これらのより具体的な例としては、tert-ブチルアミノ基、ベンジルアミノ基、アミノ基等が上げられ、より好ましい例としては、アミノ基があげられる。

本発明の目的化合物[I]は、テトラヒドロイソキノリン骨格部分の3位の立体配置がR配置のもの、S配置のもの及びそれらの混合物のいずれも含み、これらのうち、Sの立体配置を持った化合物が好ましい。また、化合物[I]がさらに不斉炭素原子を持つ場合においては、それら不斉炭素原子に基づくいずれの立体異性体、また、それらの混合物も本発明に含まれる。

本発明の有効成分である化合物[I]は、ペプチド合成の常法、例えば、「ペプチド合成」(合成化学シリーズ、丸善株式会社発行、1975年)及び「ペプチド合成の基礎と実験」(丸善株式会社発行、1985年)に記載の方法又はこれらに準じる方法により、液相法でも固相法でも製することができる。

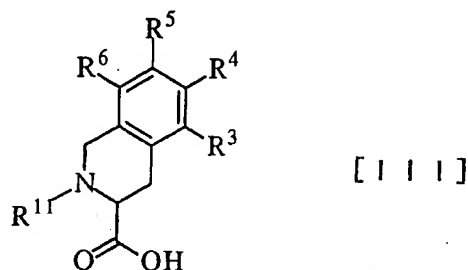
化合物[I]のうち、一般式[I-a]：



(式中、R²²は(1)カルボキシ原子団が保護されていてもよいアミノ酸からアミノ原子団の水素原子を1つ取り去った構造を有する基又は(2)1級もしくは2級アミン又はアンモニアから窒素原子上の水素原子を1つ取り去った構造を有する基、R

1、R³、R⁴、R⁵及びR⁶は上記と同一意味を有する)

で示される化合物は、一般式[III]：



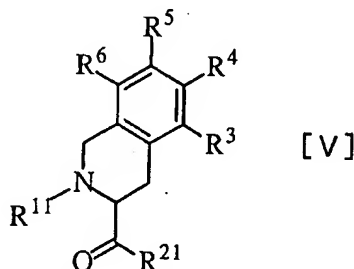
(式中、R¹¹は(1)少なくともアミノ原子団が保護されているアミノ酸からカルボキシ原子団のヒドロキシ原子団を取り去った構造を有する基又は(2)アミノ基の保護基、R³、R⁴、R⁵及びR⁶は上記と同一意味を有する)

で示される化合物又はそのカルボキシ基における反応性誘導体と一般式[IV]：



(式中、R²¹は(1)少なくともカルボキシ原子団が保護されているアミノ酸からアミノ原子団の水素原子を1つ取り去った構造を有する基又は(2)1級もしくは2級アミン又はアンモニアから窒素原子上の水素原子を1つ取り去った構造を有する基を表す)

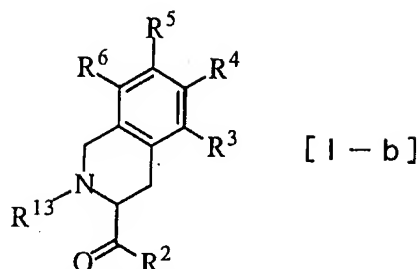
で示される化合物とを縮合させることにより一般式[V]：



(式中、R¹¹、R²¹、R³、R⁴、R⁵及びR⁶は上記と同一意味を有する)

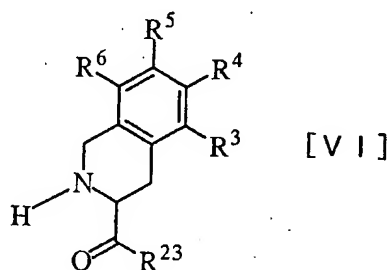
で示される化合物を製し、所望により保護基を除去することにより製することができる。

また、化合物[I]のうち、一般式[I-b]：



(式中、R¹³はアミノ原子団が置換されていてもよいアミノ酸からカルボキシ原子団のヒドロキシ原子団を取り去った構造を有する基、R²、R³、R⁴、R⁵及びR⁶は上記と同一意味を有する)

で示される化合物は、一般式[VI]：



(式中、R²³は(1)保護されている水酸基、(2)少なくともカルボキシ原子団が保護されているアミノ酸からアミノ原子団の水素原子を1つ取り去った構造を有する基又は(3)1級もしくは2級アミン又はアンモニアから窒素原子上の水素原子を1つ取り去った構造を有する基、R³、R⁴、R⁵及びR⁶は上記と同一意味を有する)

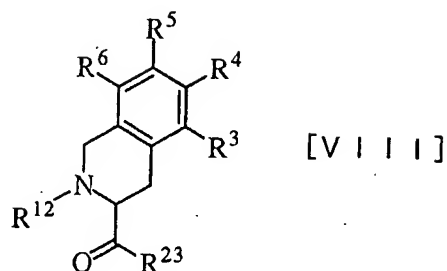
で示される化合物と一般式[VII]：



(式中、R¹²は少なくともアミノ原子団が保護されているアミノ酸からカルボキシ原子団のヒドロキシ原子団を取り去った構造を有する基を表す)

で示されるアミノ酸又はそのカルボキシ基における反応性誘導体とを縮合させるこ

とにより一般式[V I I I]：

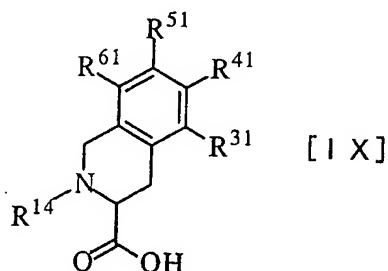


(式中、 R^{12} 、 R^{23} 、 R^3 、 R^4 、 R^5 及び R^6 は上記と同一意味を有する)

で示される化合物を製し、所望により保護基を除去することにより製することができる。

より具体的な製法の例を次の(A)～(C)に示す。

(A)一般式[I X]：



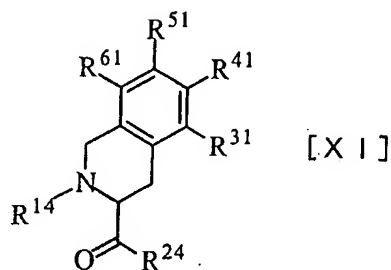
(式中、 R^{14} はアミノ基の保護基、 R^{31} 、 R^{41} 、 R^{51} 及び R^{61} は同一又は異なって水素原子、水酸基又は低級アルコキシ基を表す)

で示される化合物又はそのカルボキシ基における反応性誘導体と一般式[X]：



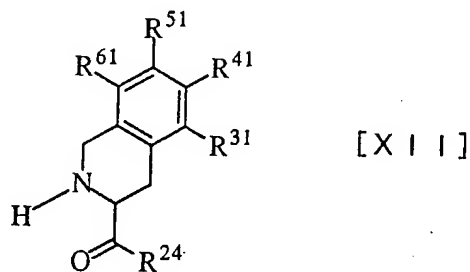
(式中、 R^{24} は(1)少なくともカルボキシ原子団が保護されているアミノ酸からアミノ原子団の水素原子を1つ取り去った構造を有する基又は(2)1級もしくは2級アミン又はアンモニアから窒素原子上の水素原子を1つ取り去った構造を有する基を表す)

で示される化合物を適当な縮合剤を用い、適当な溶媒中、 -30°C ～室温で縮合させることにより一般式[X I]：



(式中、 R^{14} 、 R^{24} 、 R^{31} 、 R^{41} 、 R^{51} 及び R^{61} は上記と同一意味を有する)
で示される化合物を製し、所望により保護基を常法に従って除去することにより対応する目的化合物[I]を製することができる。

また、所望により、該化合物[X I]のN末端の保護基 R^{14} を除去した一般式[X I I]：

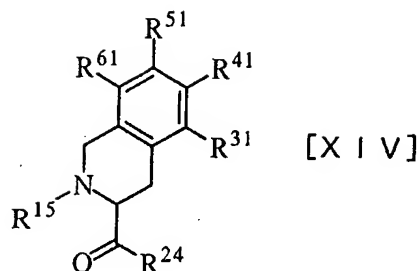


(式中、 R^{24} 、 R^{31} 、 R^{41} 、 R^{51} 及び R^{61} は上記と同一意味を有する)
で示される化合物と一般式[X I I I]：



(式中、 R^{15} は少なくともアミノ原子団が保護されているアミノ酸からカルボキシ原子団のヒドロキシ原子団を取り去った構造を有する基を表す)

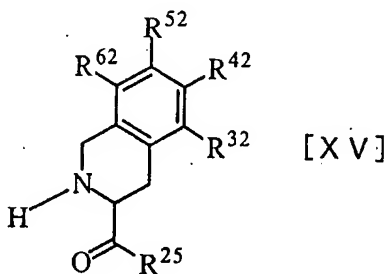
で示されるアミノ酸とを適当な縮合剤を用い、適当な溶媒中、氷冷下～室温で縮合させることにより一般式[X I V]：



(式中、 R^{15} 、 R^{24} 、 R^{31} 、 R^{41} 、 R^{51} 及び R^{61} は上記と同一意味を有する)で示される化合物を製し、さらに所望により、保護基を常法に従って除去することにより対応する目的化合物[I]を製することができる。

上記化合物[IX]、[X]、[XI]、[XII]、[XIII]及び[XIV]において、 R^{14} の好ましい例としては、アリール基置換低級アルコキシカルボニル基があげられ、 R^{15} の好ましい例としては、低級アルコキシカルボニル基でアミノ原子団が保護されている α -アミノ酸から α -カルボキシ原子団のヒドロキシ原子団を取り去った構造を有する基があげられ、 R^{24} の好ましい例としては、低級アルキルでカルボキシ原子団が保護されている α -アミノ酸から α -アミノ原子団の水素原子を1つ取り去った構造を有する基又は低級アルキル又はアリール置換低級アルキルから選ばれる基1つもしくは2つで置換されていてもよいアミノ基があげられ、 R^{31} 、 R^{41} 、 R^{51} 及び R^{61} の例としては、同一又は異なって水素原子又は低級アルコキシ基があげられる。

(B)一般式[XV]：



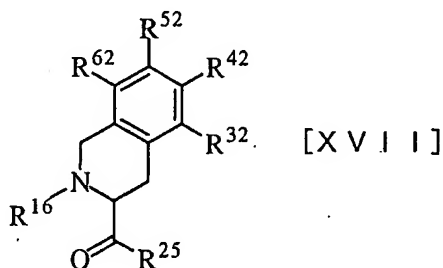
(式中、 R^{25} は保護基を有している水酸基を表し、 R^{32} 、 R^{42} 、 R^{52} 及び R^{62} は同一又は異なって水素原子、水酸基又は低級アルコキシ基を表す)

で示される化合物と一般式[XVI]：



(式中、 R^{16} は少なくともアミノ原子団が保護されているアミノ酸からカルボキシ原子団のヒドロキシ原子団を取り去った構造を有する基を表す)

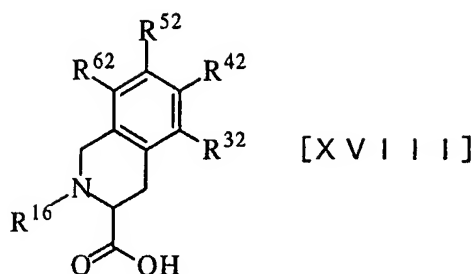
で示されるアミノ酸又はそのカルボキシ基における反応性誘導体とを適当な縮合剤を用い、適当な溶媒中、氷冷下～室温で縮合させることにより一般式[XVII]：



(式中、 R^{16} 、 R^{25} 、 R^{32} 、 R^{42} 、 R^{52} 及び R^{62} は上記と同一意味を有する)で示される化合物を製し、所望により、保護基を常法に従って除去することにより対応する目的化合物[I]を製することができる。

上記化合物[XV]、[XVI]及び[XVII]において、 R^{16} の好ましい例としては、低級アルコシカルボニル基でアミノ原子団が置換されている α -アミノ酸から α -カルボキシ原子団のヒドロキシ原子団を取り去った構造を有する基があげられ、 R^{25} の好ましい例としては、アリール基置換低級アルコキシ基があげられ、 R^{32} 、 R^{42} 、 R^{52} 及び R^{62} の好ましい例としては、水素原子があげられる。

(C)上記(B)で得られた化合物のうち、一般式[XVIII]：



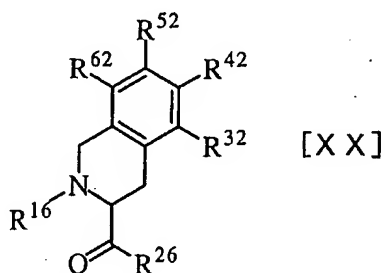
(式中、 R^{16} 、 R^{32} 、 R^{42} 、 R^{52} 及び R^{62} は上記と同一意味を有する)

で示される化合物又はそのカルボキシ基における反応性誘導体と一般式[XIX]：



(式中、 R^{26} は(1)少なくともカルボキシ原子団が保護されているアミノ酸からアミノ原子団の水素原子を1つ取り去った構造を有する基又は(2)1級もしくは2級アミン又はアンモニアから窒素原子上の水素原子を1つ取り去った構造を有する基を表す)

で示される化合物とを適当な縮合剤を用い、適当な溶媒中、 -30°C ～室温で縮合させることにより一般式[XX]：



(式中、 R^{26} 、 R^{16} 、 R^{32} 、 R^{42} 、 R^{52} 及び R^{62} は上記と同一意味を有する)

で示される化合物を製し、所望により、保護基を常法に従って除去することにより対応する目的化合物を製することができる。

上記化合物[XVII]、[XIX]及び[XX]において、 R^{16} の好ましい例としては、低級アルコキシカルボニル基でアミノ原子団が保護されている α -アミノ

酸から α -カルボキシ原子団のヒドロキシ原子団を取り去った構造を有する基があげられ、R²⁶の好ましい例としては、アリール基置換低級アルキル基でカルボキシ原子団が保護されている α -アミノ酸から α -アミノ原子団の水素原子を1つ取り去った構造を有する基又はアミノ基があげられ、R³²、R⁴²、R⁵²及びR⁶²の例としては、水素原子があげられる。

カルボキシ原子団(カルボキシル基)及びアミノ原子団(アミノ基)の保護基としては縮合反応に関与せず、常法により容易に除去できるものであればよく、ペプチド合成におけるアミノ酸の保護基として通常用いられるものを用いることができる。カルボキシ原子団の保護基としては、例えば、低級アルキル基及びアリール基置換低級アルキル基等があげられ、具体的にはメチル基、エチル基及びベンジル基等があげられる。このうち好ましいものとしては、アリール基置換低級アルキル基があげられ、例えば、ベンジル基等があげられる。アミノ原子団の保護基としては、例えば、置換及び非置換低級アルコキシカルボニル基等があげられ、具体的にはベンジルオキシカルボニル基、4-メトキシベンジルオキシカルボニル基、9-フルオレニルメチルオキシカルボニル基、tert-ブトキシカルボニル基及び2,2,2-トリクロロエチルオキシカルボニル基等があげられる。このうち好ましいものとしては、アリール基置換低級アルコキシカルボニル基及び非置換低級アルコキシカルボニル基があげられ、例えば、ベンジルオキシカルボニル基及びtert-ブトキシカルボニル基があげられる。

また、これらカルボキシ原子団及びアミノ原子団の保護基は、容易に公知の方法、例えばペプチド化学の常法により除去することができる。

アミノ酸のカルボキシル基における反応性誘導体としては、その活性エステルがあげられ、例えば、スクシンイミドエステル、ベンゾトリアゾールエステル等があげられる。

適当な縮合剤としては、1,3-ジシクロヘキシルカルボジイミドなどが用いられる。また、エステル活性化剤と縮合剤の組み合わせでも縮合反応を行うことができ、例えば、1-ヒドロキシベンゾトリアゾール(一水和物)と1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボキシジイミド塩酸塩、N-ヒドロキシスクシニイミドと1,3-ジシクロヘキシルカルボジイミドを用いることができる。このうち好ましいものとしては、1-ヒドロキシベンゾトリアゾール(一水和物)と1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボキシジイミド塩酸塩の組み合わせがあげられる。

適当な溶媒としては、縮合反応に関与しない不活性溶媒であればよく、例えば、ジメチルホルムアミド、ジメチルスルフォキシド、ジクロロメタン、ジクロロエタン、クロロホルム、テトラヒドロフラン、酢酸エチル及びN-メチルピロリドン等があげられ、好ましいものとしては、ジメチルホルムアミドがあげられる。

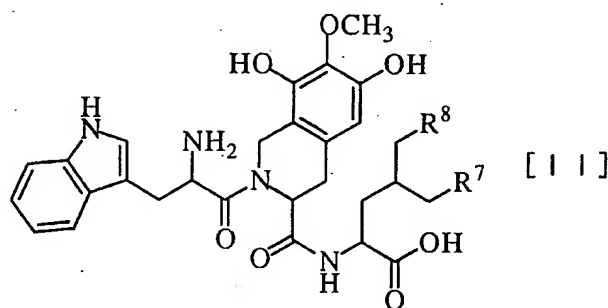
なお、縮合反応に付す化合物がカルボキシ原子団及びアミノ原子団以外の反応性の官能基を有する場合は、常法に従い、当該官能基をあらかじめ保護してから縮合反応に付し、その後、適宜、脱保護するのが好ましい。

本発明の目的化合物[I]は、市販の自動合成装置を用いることにより、樹脂に所望の原料アミノ酸を結合させた担体と、対応する原料アミノ酸誘導体を縮合、脱保護を行い、更に該樹脂を除去した後、ペプチドの分離手段、例えば、抽出、分配、再沈殿、結晶化、再結晶、各種クロマトグラフィー、高速クロマトグラフィー等によって精製して得ることもできる。

樹脂としては、最終的に目的物がアミドの形で切り出せるものであれば、いずれのものでも用いることができ、たとえば、N- α -9-フルオレニルメトキシカルボニルスーパーアシッドラビル ポリエチレングリコール ハンドル ポリスチレン(商品名: Fmoc-NH-SAL-PEG Resin; 渡辺化学製)、(4

—2', 4'—ジメトキシフェニル—N— α —9—フルオレニルメトキシカルボニル—アミノメチル)—フェノキシ レジン(商品名: Fmoc—NH—SAL Resin; 渡辺化学製)及び(4—2', 4'—ジメトキシフェニル—N— α —9—フルオレニルメトキシカルボニル—アミノメチル)—フェノキシアセトアミド—ノルロイシン—p—メチル—ベンズヒドロキシアミン レジン(商品名: Fmoc—NH—SAL—MBHA Resin; 渡辺化学製)などがあげられる。

さらに、本発明の有効成分である化合物のうち、一般式[I I]:



(式中、R⁷及びR⁸は上記と同一意味を有する)

で示されるテトラヒドロイソキノリン誘導体、即ち、TMC—2 A、TMC—2 BもしくはTMC—2 Cはアスペルギルス属に属するカビを培養し、その培養物から単離することにより得ることもできる。

以下に、アスペルギルス属に属するカビによるTMC—2 A、TMC—2 BおよびTMC—2 Cの製造法についてさらに詳細に説明する。

TMC—2 A、TMC—2 BおよびTMC—2 Cの生産菌の一例として、高知県高知市の土壌から分離したA 3 7 4株が挙げられる。本菌株の菌学的性質は下記のとおりである。

A 3 7 4株の各種培地における25℃、7日間培養後の生育状態を第1表に示す。なお、色調についてはJ I Sの標準色表(Z 8 7 2 1)に従って判定した。

第1表 TMC-2 A、2 B及び2 Cの理化学的性状

性質	TMC-2 A	TMC-2 B	TMC-2 C
形状	白色粉末	白色粉末	白色粉末
融点(℃)	166~168	166~168	175~181
溶解性	水、メタノールに可溶、クロロホルムに不溶	水、メタノールに可溶、クロロホルムに不溶	メタノールに可溶、クロロホルムに不溶
比旋光度 ¹⁾	+2.39° (C 0.2, H ₂ O)	+11.42° (C 0.1, H ₂ O)	-17.5° (C 0.1, MeOH)
FAB-MS	571 (M+H) ⁺	555 (M+H) ⁺	555 (M+H) ⁺
HR FAB-MS	571.2331 (M+H) ⁺	—	—
分子式	C ₂₈ H ₃₄ N ₄ O ₉	C ₂₈ H ₃₄ N ₄ O ₈	C ₂₈ H ₃₄ N ₄ O ₈
UV	212, 272 (sh)	212, 272 (sh)	212, 272 (sh)
λ MAX (MeOH) nm	280, 288	280, 288	280, 288
I R ν max (KBr) cm ⁻¹	3380, 1650	3380, 1650	3300, 1650
呈色反応	ニンヒドリン	ニンヒドリン	ニンヒドリン
シリカゲル	(1) 0.45	(1) 0.51	(1) 0.49
TLC Rf ²⁾	(2) 0.30	(2) 0.58	(2) 0.52
HPLC	(1) 3.27	(1) 3.82	(1) 3.83
Rt (分) ³⁾	(2) 12.17	(2) 12.83	(2) 12.90

1) TMC-2 AとTMC-2 Bは水溶液として、TMC-2 Cはメタノール溶液としてそれぞれ20℃にて測定した。

2) 展開溶媒：(1) CH₂Cl₂：MeOH：EtOH：H₂O(10：4：4：2)

(2) EtOAc：MeOH：H₂O(10：10：2)

3) 溶出溶媒：(1) 20%CH₃CN-80%H₂O(1.2 ml/分)

(2) 直線のグラジエント：10%CH₃CN-90%H₂O(0分)→
35%CH₃CN-65%H₂O(25分)(1.2 ml/分)

A 3 7 4 株の生育温度範囲は15～45℃であり、至適温度範囲は20～40℃である。また、生育pH範囲はpH2～13であり、至適pHの範囲はpH3～11である。

菌糸は、その表面は平滑であり、隔壁を有する。菌糸の一部から足細胞(*foot Cell*; $6.7 \sim 8.7 \mu\text{m} \times 37 \sim 57 \mu\text{m}$)を持った分生子柄($6.7 \sim 8.0 \mu\text{m} \times 23 \sim 1100 \mu\text{m}$)が形成され、その先端に亜球形、一部棍棒状の頂囊($17 \sim 24 \mu\text{m} \times 19 \sim 27 \mu\text{m}$)が認められる。頂囊の上部の半円部分からピンの形をした一段梗子(*primary sterigmata*; $2.3 \sim 3.3 \mu\text{m} \times 13 \mu\text{m}$)があり、そこから球形の分生子($4.0 \sim 6.7 \mu\text{m}$)が連鎖状ないし連鎖状で束状に形成される。分生子頭は、主に円柱状($50 \sim 100 \mu\text{m} \times 160 \sim 200 \mu\text{m}$)であるが、グローブ状や球状($33 \sim 60 \mu\text{m} \times 20 \sim 47 \mu\text{m}$)の形状を示す分生子頭も認められる。

以上の特徴から、A 3 7 4 株はアスペルギルス(*Aspergillus*)属に属することが判明した。この*Aspergillus* sp. A 3 7 4 株は、平成7年5月18日に通商産業省工業技術院生命工学工業技術研究所(日本国茨城県つくば市東1丁目1番3号)へ受託番号FERM P-14934として寄託され、その後、平成9年9月19日に同研究所へ受託番号FERM BP-6113として移管寄託された。

本発明の方法によってTMC-2A、TMC-2BおよびTMC-2Cを製造するには、アスペルギルス属に属するTMC-2A、TMC-2BおよびTMC-2C生産菌を栄養源含有培地に接種して好氣的に生育させる。これによって、TMC-2A、TMC-2BおよびTMC-2Cを含む培養物が得られる。

栄養源としては、微生物の栄養源として使用しうる炭素源および窒素源を使用することができる。たとえば、ペプトン、肉エキス、コーン・ステープ・リカー、

綿実粉、落花生粉、大豆粉、酵母エキス、N Z - アミン、カゼイン水解物、硝酸アンモニウム、硫酸アンモニウムなどの窒素源、および澱粉、グリセリン、シュクロース、グルコース、ガラクトース、マンノース、糖ミツなどの炭水化物あるいは脂肪などの炭素源が使用できる。また、食塩、炭酸カルシウム、リン酸塩、硫酸マグネシウムなどの無機塩を添加できる。これらのものは、生産菌が利用し、TMC-2 A、TMC-2 BおよびTMC-2 Cの生産に役立つものであればよい。

上記TMC-2 A、TMC-2 BおよびTMC-2 Cの生産菌の培養には液体培養が好ましい。培養温度は、生産菌が生育し所望の物質が生産される範囲が使用でき、通常20～35℃である。培養は、使用する生産菌の性質に応じて前記条件から適宜選択して行うことができる。所望のTMC-2 A、TMC-2 BおよびTMC-2 Cは、培養液中に生産される。それら生産物の単離・精製は、それ自体公知の方法、たとえばイオン交換クロマトグラフィー、分配クロマトグラフィー、逆相クロマトグラフィーなどを適宜組み合わせて行うことができる。

本発明のジペプチジルペプチダーゼIV阻害物質TMC-2 A、TMC-2 BおよびTMC-2 Cの理化学的性状を下記の第2表に示す。

第2表 A 3 7 4 株の各種培地における生育状態

培地	コロニー の直径 (平均)	表面		裏面
		辺縁部を除いた全面	辺縁部	
麦芽エキ ス寒天培 地	71~76mm (74)	全面はビロード状で二重に彩られ外側は 薄い黄色(5Y6.3/8.5)の粉状、中央部は濃 い緑みの黄色(6.3Y/6/8)で粉状、中心部 には明るい灰色(N8.0)の綿毛状	平坦で薄く不規 則で明るい灰色 (N8.5)	しわの無いご くうすい黄色 (2.5Y8/4)
ポテトデ キスト ローズ寒 天培地	66~70mm (68)	全面は年輪状に段差のあるレース状でく らい黄緑色(10Y5/6)の粉状、中心部には 明るい灰色(N8.0)で綿毛状と松葉色 (10Y5/4)の粉状のものが点在	平坦で薄く不規 則で明るい灰色 (N8.5)	しわの無いく すんだ黄色 (5Y8/3)
ツアベッ ク寒天培 地	52~53mm (53)	全面はレース状で白い、その上に黄色 (2.5Y7.5/12)で粉状のものが多数存在	平坦で薄く不規 則で明るい灰色 (N8.5)	しわの無いく すんだ黄色 (2.5Y8/6)
サブロー 寒天培地	68~ 70mm(69)	全面はレース状でごくうすい黄色(5Y9/2) その上に黄色(5Y8/10)で粉状のものが存 在、その中に長い菌糸体が点在し、その 上にごくうすい黄色(2Y9/2)で粉状のものが存在	平坦で薄く不規 則で明るい灰色 (N8.5)に縁取ら れている	しわの無いご くうすい黄色 (7.5Y9/3)
オート ミール寒 天培地	67~68mm (68)	全面は放射状にしわがあり、粉状でく すんだ黄緑(10Y6/6)、中央部には明るい灰 色(N8.0)綿毛状のものが点在	平坦で薄く規則 正しく白色(N9) に縁取られてい る	放射状にしわ のある灰黄色 (7.5YR6/4)
Yp S s 寒 天培地	57~60mm (58)	全面はビロード状で二重に彩られ外側は 白色(N9)で中央部は明るい灰黄色 (7.5Y8/2)綿毛状のものが存在	平坦で規則正し く白色(N9)に縁 取られている	放射状にしわ のあるごくう すい黄色 (10YR8.5/3)
MY20寒 天培地	76~78mm (77)	全面はビロード状であざやかな黄色 (2.5Y7/10)で粉状のものが多数存在	白色(N9)でやや 不規則に縁取ら れている	放射状にしわ のあるレグ ホーン色 (2.5Y8/4)
M40Y寒 天培地	74~77mm (76)	全面はビロード状でくすんだ黄緑(5Y6/8) で粉状のものが多数存在	白色(N9)でやや 不規則に縁取ら れている	放射状にしわ のあるレグ ホーン色 (2.5Y8/4)

またTMC-2A、TMC-2BおよびTMC-2CのUVおよびIRスペクトルをそれぞれ添付の図1～図3および図4～6に示す。UVスペクトルは、各試料50 μ g/mlのメタノール溶液について分析した。IRスペクトルは、各試料を1% (w/w) 含む臭化カリウム錠剤について分析した。

さらに、TMC-2A、TMC-2BおよびTMC-2Cの400MHzプロトン核磁気共鳴スペクトルをそれぞれ添付の図7～9に示す。なお、TMC-2AとTMC-2Bは、重水中にてTSP(トリメチルシリルプロピルスルホン酸ナトリウム)を内部基準として測定した。また、TMC-2Cは、重メタノール中にてTMS(テトラメチルシラン)を内部基準として測定した。また、それらの化学シフト δ (ppm)を以下に記載する。

TMC-2A: 7.55 (1H, d), 7.46 (1H, d), 7.34 (1H, s), 7.13 (1H, t), 7.07 (1H, t), 6.02 (1H, s), 4.82 (1H, d), 4.50 (1H, dd), 4.11 (1H, dd), 3.77 (1H, d), 3.73 (4H, m), 3.49~3.28 (5H, m), 3.19 (1H, dd), 2.35 (1H, dd), 1.68 (1H, ddd), 1.44 (1H, ddd), 1.14 (1H, dd), 0.71 (1H, m)

TMC-2B: 7.58 (1H, dd), 7.52 (1H, d), 7.38 (1H, s), 7.22 (1H, dd), 7.16 (1H, dd), 6.09 (1H, s), 4.80 (1H, d), 4.50 (1H, dd), 4.04 (1H, dd), 3.83 (1H, d), 3.77 (1H, m), 3.73 (3H, s), 3.50 (1H, dd), 3.43 (1H, dd), 3.08 (2H, d), 2.39 (1H, dd), 1.64 (1H, ddd), 1.20 (2H, m), 0.63 (4H, m)

TMC-2C: 7.53 (1H, d), 7.40 (1H, d), 7.24 (1H, s), 7.12 (1H, dd), 7.07 (1H, dd), 6.09 (1H, s), 5.06 (1H, d

), 4.23 (1H, dd), 4.22 (1H, dd), 3.73 (3H, s), 3.70 (1H, d), 3.60 (1H, dd), 3.36 (2H, d), 3.12 (2H, d), 2.37 (1H, dd), 1.45 (2H, dd), 1.29 (1H, m), 0.58 (1H, m), 0.50 (3H, d)

TMC-2A、TMC-2BおよびTMC-2Cの100MHzカーボン核磁気共鳴スペクトルをそれぞれ添付の図10～図12に示す。なお、TMC-2AとTMC-2Bは重水中にてジオキサンを内部標準として測定した。また、TMC-2Cは重メタノール中にてTMSを内部標準として測定した。また、それらの化学シフト δ (ppm)を以下に記載する。

TMC-2A: 181.4, 174.1, 173.7, 151.1, 148.6, 139.6, 137.1, 132.0, 129.2, 128.0, 125.2, 122.6, 120.7, 114.9, 113.6, 109.9, 109.1, 65.6, 63.5, 62.7, 59.3, 55.5, 54.8, 41.6, 41.4, 33.1, 32.2, 30.5

TMC-2B: 182.0, 174.4, 174.2, 151.5, 149.1, 139.5, 137.7, 132.4, 129.6, 128.5, 125.7, 123.1, 121.2, 115.4, 114.0, 110.4, 109.1, 67.6, 64.0, 59.7, 56.3, 55.2, 42.1, 37.7, 34.4, 33.4, 30.9, 20.1

TMC-2C: 179.6, 171.9, 171.4, 150.8, 148.0, 138.1, 135.8, 130.0, 128.1, 125.6, 123.2, 120.6, 119.3, 112.7, 111.4, 108.2, 107.7, 68.6, 60.9, 58.2, 53.6, 53.5, 39.9, 36.9, 33.1, 31.7, 29.5, 15.5

なお、窒素原子および酸素原子に結合しているプロトンは、TMC-2Aのアセチル化体を調製し、その重クロロホルム中におけるプロトンおよびカーボン核磁気共鳴スペクトルを測定することによって確認した。

以上の結果をもとにして、TMC-2A、TMC-2BおよびTMC-2Cは前記の一般式[I I]の構造を有することが決定された。この化学構造の化合物はこれまでに報告されておらず、TMC-2A、TMC-2BおよびTMC-2Cは新規物質である。

なお、ある化合物がジペプチジルペプチダーゼI V阻害作用を有するかどうかは、例えば、当該化合物が、ジペプチジルペプチダーゼI Vにより、L-Gly-L-Pro-p-ニトロアニリドがL-Gly-L-Proとp-ニトロアニリンに加水分解される反応を阻害するかどうかで判断することができる。

本発明の化合物は、遊離の形でも、また薬理的に許容される塩の形でも医薬用途に使用することができる。かかる薬理的に許容される塩としては、慣用の無毒性塩であればいずれものでもよく、例えば、塩酸塩、臭化水素酸塩、硫酸塩又はリン酸塩等の如き無機酸塩、ギ酸塩、酢酸塩、トリフルオロ酢酸塩、シュウ酸塩、マレイン酸塩、フマル酸塩、酒石酸塩、メタスルホン酸塩、ベンゼンスルホン酸塩又はトルエンスルホン酸塩等の如き有機酸塩、ナトリウム塩、カリウム塩等の如きアルカリ金属塩、カルシウム塩等の如きアルカリ土類金属塩、及びアルギニン塩、アスパラギン酸塩、グルタミン酸塩等の如きアミノ酸との塩等があげられる。

また、本発明の目的化合物及びその薬理的に許容しうる塩には、その分子内塩、付加物やそれらの溶媒和物或いは水和物等をいずれも含むものと解釈されるべきである。

本発明の化合物及びその薬理的に許容しうる塩を有効成分としてなる医薬組成物を薬剤として用いる場合は、エアゾール剤、錠剤、丸剤、散剤、顆粒剤、トローチ

剤、液剤、懸濁剤、乳剤、カプセル剤、マイクロカプセル剤、座剤、注射剤、硬膏剤、軟膏剤、シロップ剤、パップ剤、リニメント剤、ローション剤等の慣用の医薬製剤の形で、経口または非経口(静脈内、筋肉内、皮内、皮下、腹腔内又は直腸内等)投与することができる。

また、これら薬剤の添加剤としては、それぞれの薬剤の治療効果を障害せず、その薬剤の投与量において無害のものであればよく、慣用のものであればいずれも用いることができ、例えば、安定剤、緩衝剤、矯味剤、懸濁化剤、乳化剤、芳香剤、保存剤、溶解補助剤、賦形剤、着色剤、結合剤、崩壊剤、甘味剤、粘稠剤、湿潤剤、溶剤等を用いることができる。

医薬製剤中の有効成分の量は、所望の治療効果を生じるに足りる量であればよく、例えば経口又は非経口投与で $0.01\text{ mg/kg} \sim 100\text{ mg/kg}$ であり、好ましくは、 $1\text{ mg/kg} \sim 30\text{ mg/kg}$ である。

本明細書中、「アミノ原子団が保護されていてもよいアミノ酸」におけるアミノ原子団の保護基(アミノ基の保護基)としては、例えば、アシル基、アカノイル基、アロイル基、アラルキルカルボニル基、アリールオキシカルボニル基、アリール基置換低級アルコキシカルボニル基又は低級アルコキシカルボニル基等があげられ、とりわけアリールオキシカルボニル基、アリール基置換低級アルコキシカルボニル基又は低級アルコキシカルボニル基があげられる。「カルボキシ原子団が保護されていてもよいアミノ酸」におけるカルボキシ原子団が保護されているアミノ酸とは、アミノ酸のカルボキシ原子団がエステル化された化合物(アミノ酸エステル)またはアミノ酸のカルボキシ原子団がアミド化された化合物(アミノ酸アミド)があげられ、例えば、低級アルキルでカルボキシ原子団が保護されたアミノ酸、アリール基置換低級アルキルでカルボキシ原子団が保護されたアミノ酸及びジ低級アルキルアミンでカルボキシ原子団が保護されたアミノ酸等があげられる。

また、「アミノ酸」がアミノ原子団及びカルボキシ原子団以外にも反応性残基を有するものである場合(例えば、セリンにおける水酸基等)は該反応性残基の種類に応じ、ペプチド合成の分野で通常使用される保護基(例えば、水酸基であればベンジル基等)で保護されていてもよい。

「アリールオキシカルボニル基」としては、フェノキシカルボニル基、ナフチルオキシカルボニル基があげられ、「アリール基置換低級アルコキシカルボニル基」としては、ベンジルオキシカルボニル基、フェネチルオキシカルボニル基及びナフチルメチルオキシ基があげられ、好ましくは、ベンジルオキシカルボニル基があげられる。また、「低級アルコキシカルボニル基」としては、メトキシカルボニル基、エトキシカルボニル基、*n*-プロポキシカルボニル基、イソプロポキシカルボニル基、*n*-ブトキシカルボニル基、イソブトキシカルボニル基、*tert*-ブトキシカルボニル基、*sec*-ブトキシカルボニル基、*n*-ペンチルカルボニル基、イソペンチルカルボニル基、*sec*-ペンチルカルボニル基、*tert*-ペンチルカルボニル基、*n*-ヘキシルカルボニル基、イソヘキシルカルボニル基、*sec*-ヘキシルカルボニル基及び*tert*-ヘキシルカルボニル基などがあげられ、好ましくは*tert*-ブトキシカルボニル基があげられる。「アリール置換低級アルキル」としては、ベンジル基、フェネチル基、ナフチルメチル基があげられ、好ましくは、ベンジル基があげられる。

本明細書中、アリールとは、フェニル、ナフチル等を表す。また、低級アルキル及び低級アルコキシとは、分岐鎖又は直鎖状の炭素数1～6のものを表し、好ましくは分岐鎖又は直鎖状の炭素数1～4のものを表す。

本発明を以下の実験例及び実施例によってさらに具体的に説明するが、本発明はこれらに限定されるものではない。

実験例 1

反応は、ナガツら(アナリティカル・バイオケミストリー(Analytical Biochemistry)、74巻、466-476頁、1976年)の方法に準じて、96穴平底プレートを用い37℃で行った。シードルら(プレパラティブ・バイオケミストリー(Preparative Biochemistry)、21(2-3)巻、141-150頁、1991年)の方法により調製したLewisラット腎臓由来のジペプチジルペプチダーゼIV酵素(25 mU/ml)溶液5 μ l、水30 μ l、2 mM 検体化合物のジメチルスルフォキシド溶液5 μ lを混合し、10分間ブレインキュベーションを行い、次いで、710 mM Gly-NaOH(pH 8.7)緩衝溶液10 μ l、3 mM L-Gly-L-Pro-p-ニトロアニリド(Gly-Pro-pNA; シグマ社製)水溶液50 μ lを加え、生成してくるp-ニトロアニリン量をプレートリーダー(ThermoMax; モレキュラーデバイス製)を用いて波長405 nmで吸光度の増加(ΔOD)を測定することにより、ジペプチジルペプチダーゼIV酵素活性の阻害率(%)を下式1により求める。但し、ジペプチジルペプチダーゼIV酵素活性1 Uは、1分間あたり、1 μ molのp-ニトロアニリンを生成する酵素量とする。結果は第3表に示す通りである。

$$\text{阻害率 (\%)} = \frac{1 - (\Delta OD - \Delta OD_{\text{blank}})}{\Delta OD_{\text{control}} - \Delta OD_{\text{blank}}} \times 100$$

ΔOD_{blank} = ジペプチジルペプチダーゼ無添加における ΔOD

$\Delta OD_{\text{control}}$ = 検体の代わりに、DMSOを添加したときの ΔOD

第3表

検体化合物*) (実施例No.)	阻害率 (%)
13	92
23	84
32	90
33	88
34	92
35	87
36	97
37	91
38	83
39	85
40	82
42	81
43	88
44	83
46	93
47	82
48	85
49	82
51	90
55	87

*)後記実施例で得た生成物を検体化合物として実施例に供した。

実験例2

実験例1と同様に、3mM Gly-Pro-pNA 50 μ l と検体10 μ l を

添加して37℃に15分間保温した後、710 mMグリシン緩衝液(pH 8.7) 10 μ l、蒸留水25 μ lおよびLewisラット腎臓由来のジペプチジルペプチダーゼIV酵素(50 mU/ml)溶液5 μ lを添加・混合して37℃で反応させ、ジペプチジルペプチダーゼIV酵素活性の阻害率(%)を上式1より求めた。この結果、4.6 μ g/mlのTMC-2 A、9.5 μ g/mlのTMC-2 Bまたは11 μ g/mlのTMC-2 Cは、ジペプチジルペプチダーゼIV活性を50%阻害した。

TMC-2 A、TMC-2 BおよびTMC-2 Cは、ラット腎臓から精製したジペプチジルペプチダーゼIVの他に、ラット脾臓、ヒト末梢血単核球およびヒト結腸ガン細胞株Caco2から調製したジペプチジルペプチダーゼIVも阻害することが確認された。

さらに、TMC-2 A、TMC-2 BおよびTMC-2 Cの他のペプチダーゼに対する作用を検討した。すなわち、100 μ g/mlの濃度においてTMC-2 A、TMC-2 BおよびTMC-2 Cのプロリルエンドペプチダーゼ、ズブチリシン、トリプシン、カテプシンC、ロイシンアミノペプチダーゼおよびプロリンアミノペプチダーゼに対する作用を検討した。その結果、TMC-2 AとTMC-2 Bは試験したすべてのペプチダーゼに作用を示さなかった。一方、TMC-2 Cはプロリルエンドペプチダーゼとプロリンアミノペプチダーゼに対して弱い阻害を示したが、ほかのペプチダーゼは阻害しなかった。したがって、TMC-2 A、TMC-2 BおよびTMC-2 Cは、ジペプチジルペプチダーゼIVに特異性の高い阻害化合物であることが判明した。

実験例3

F344/Jclラット(5週令、雌)の尾根部にアルキルジアミン35 mg/kgを投与することによって、関節炎を惹起した。TMC-2 Aは、生理食塩水に

溶解し、アルキルジアミン投与日から試験終了まで3週間、毎日1回背部皮下に投与した。投与量は、30、10、3および1mg/kgであった。

各試験群において試験終了時に足蹠がどの程度腫脹したか(各個体におけるアルキルジアミン投与前の足蹠の体積を基準としてその何パーセント体積が腫脹したか)を図13に示す。なお、足蹠の体積は、足容積測定装置

Plethysmometer(ユニコム社製)を用いて測定した。この図13から明らかなように、TMC-2Aは、アルキルジアミン誘発関節炎の発症・進展を投与量依存的に抑制した。特に、30mg/kgと10mg/kgの投与群においては、対照群(生理食塩水投与群)と比較して、有意に抑制した。

実験例4

Lewis系ラット(6週令、雌)の尾根部に流動パラフィンに懸濁した結核菌加熱死菌(M. tuberculosis H37Ra株(Difco製)0.6mg/kg)を投与することによって、関節炎を惹起した。検体化合物は、生理食塩水に溶解し、結核菌加熱死菌投与日から試験終了まで18日間、毎日1回、背部皮下に投与した。投与量は、TMC-2Aにおいては10mg/kg、実施例17の化合物においては30及び1.0mg/kgであった。

各試験群において試験終了時に足蹠がどの程度腫脹したか(各個体における結核菌加熱死菌投与前の足蹠の体積を基準としてその何パーセント体積が腫脹したか)を図14に示す。なお、足蹠の体積は、足容積測定装置

Plethysmometer(ユニコム社製)を用いて測定した。この図14から明らかなように、TMC-2Aおよび実施例13の化合物は、アジュバンド誘発関節炎の発症・進展を投与量依存的に抑制した。特に、TMC-2Aの10mg/kg、実施例13の化合物の30mg/kgの投与群においては、対照群(生理食塩水投与群)と比較して、有意に抑制した。

実施例 1

(3S)-1,2,3,4-テトラヒドロイソキノリン-3-カルボン酸・ベンジルエステル 7.3 g、N-tert-ブチルオキシカルボニル-L-トリプトファン 4.56 g、1-ヒドロキシベンゾトリアゾール(一水和物) 2.76 g 及び 1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド塩酸塩 3.45 g を、氷冷下ジメチルホルムアミド 50 ml に溶解し、氷冷下 2 時間、さらに室温で 16 時間攪拌した後、反応溶液を減圧濃縮した。残さを酢酸エチルで抽出、洗浄、乾燥、濃縮した。残さをシリカゲルカラムクロマトグラフィー(酢酸エチル：n-ヘキサン = 1：2)にて精製し、アモルファス状の(3S)-2-(N-tert-ブチルオキシカルボニル-L-トリプトフィル)-1,2,3,4-テトラヒドロイソキノリン-3-カルボン酸・ベンジルエステル 8.07 g を得た。

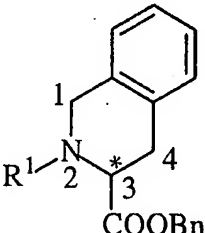
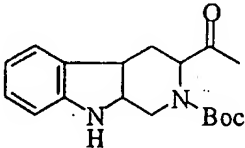
IR(KBr, cm^{-1}): 3320, 2975, 1730, 1700, 1645, 1450, 1430, 1170, 745

MS(SIMS): 554 (M+1)

実施例 2～6

1,2,3,4-テトラヒドロイソキノリン-3-カルボン酸・ベンジルエステルと N-tert-ブチルオキシカルボニル- α -アミノ酸誘導体とを実施例 1 と同様に処理して下記第 4 表記載の化合物を得た。

第4表

			
実施例 No.	R ¹	3 位立体	物理恒数等
2	Boc-D-Trp	S	アモルファス状物 IR (KBr, cm ⁻¹): 3335, 2975, 1735, 1700, 1645, 1455, 1430, 1170, 740 MS(SIMS): 554 (M+1)
3	Boc-L-Trp	R	アモルファス状物 IR (KBr, cm ⁻¹): 3400, 3340, 2975, 1735, 1700, 1640, 1490, 1430, 1170, 745 MS(SIMS): 554 (M+1)
4		S	油状物 MS(SIMS): 566 (M+1)
5	Boc-L-Phe	S	油状物 IR (KBr, cm ⁻¹): 3320, 2975, 1735, 1700, 1650, 1490, 1420, 1170, 700 MS(SIMS): 515 (M+1)
6	N(α)-Boc-N(ω)- Z-L-Lys	S	油状物 IR (KBr, cm ⁻¹): 3340, 2935, 1715, 1640, 1510, 1420, 1240, 1170, 745 MS(SIMS): 630 (M+1)

但し、表中 Bn- は ベンジル基、Boc- は tert-ブトキシカルボニル基、Z- は ベンジ
ルオキシカルボニル基を表す。

実施例 7

実施例 1 で得られた化合物 7.0 g をメタノール 50 ml に溶解し、触媒量のパラジウム-炭素を加えた後、溶液を風船圧力のもと室温で 3 時間水素添加した。触媒をろ別し、ろ液を濃縮した。残さを酢酸エチル-n-ヘキサン系の溶媒から結晶化して、無色結晶の (3S)-2-(N-tert-ブチルオキシカルボニル-L-トリプトフィル)-1,2,3,4-テトラヒドロイソキノリン-3-カルボン酸 5.25 g を得た。

m. p. : 143 °C (分解)

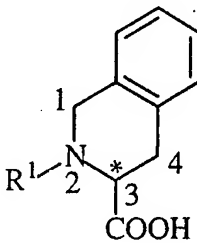
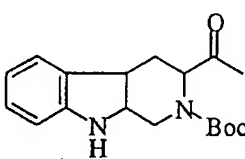
IR (KBr, cm^{-1}): 3340, 2980, 1720, 1700, 1630, 1440, 1170, 740

MS (SIMS): 464 (M+1)

実施例 8 ~ 11

実施例 2 ~ 5 で得た化合物を実施例 7 と同様に処理して下記第 5 表記載の化合物を得た。

第5表

			
実施例 No.	R ¹	3 位立体	物理恒数等
8	Boc-D-Trp	S	m.p.: 197 - 198 °C IR (KBr, cm ⁻¹): 3300, 2975, 1740, 1730, 1700, 1615, 1490, 1455, 1200, 750 MS(SIMS): 464 (M+1)
9	Boc-L-Trp	R	アモルファス状物 IR (KBr, cm ⁻¹): 3300, 2980, 1710, 1630, 1460, 1360, 1165, 745 MS(SIMS): 464 (M+1)
10		S	m.p.: >200°C IR (KBr, cm ⁻¹): 3410, 1670, 1630, 1410, 1160, 740 MS(SIMS): 476 (M+1)
11	Boc-L-Phe	S	アモルファス状物 IR (KBr, cm ⁻¹): 3300, 2980, 1700, 1645, 1490, 1455, 1165, 750, 700 MS(SIMS): 425 (M+1)

但し、表中 Boc- は tert-ブトキシカルボニル基を表す。

実施例 12

実施例 6 で得られた化合物 2.97 g をメタノール 20 ml に溶解し、1 M 水酸化ナトリウム水溶液 5 ml を加えた後、室温で 3 時間攪拌した。反応液を減圧濃縮し残留物をエーテル洗浄した後、硫酸水素カリウム水溶液を加えて酸性とし、酢酸

エチルで抽出した。抽出液を洗浄、乾燥、濃縮し、アモルファス状の(3S)-2-[N(α)-tert-ブチルオキシカルボニル-N(ω)-ベンジルオキシカルボニル-L-リジル]-1,2,3,4-テトラヒドロイソキノリン-3-カルボン酸2.62gを得た。

IR(KBr, cm^{-1}): 3340, 2975, 1705, 1625, 1520, 1440, 1240, 1165

MS(SIMS): 540(M+1)

実施例13

実施例7で得られた化合物4.0gを4M塩酸-ジオキサン溶液50mlに溶解し、窒素雰囲気下、室温で30分間攪拌した。反応溶液を減圧濃縮し、残さを水に溶解した後、凍結乾燥して淡赤色粉末状の(3S)-2-(L-トリプトフィル)-1,2,3,4-テトラヒドロイソキノリン-3-カルボン酸・塩酸塩3.3gを得た。

m. p.: 158°C(分解)

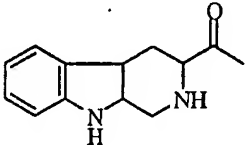
IR(KBr, cm^{-1}): 3400, 2910, 1720, 1645, 1490, 1460, 1205, 1120, 745

MS(SIMS): 364(M+1)

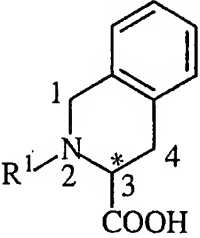
実施例14~18

実施例8~12で得た化合物を実施例13と同様に処理して下記第6表記載の化合物を得た。

第6表(その1)

実施例 No.	R ¹	3 位立体	物理恒数等
14	D-Trp	S	凍乾アモルファス状物 IR (KBr, cm ⁻¹): 3400, 2920, 1720, 1650, 1490, 1460, 1360, 1110, 870, 740 ¹ H-NMR(DMSO-d ₆ , d): 11.0 (d-like, J=33 Hz, 1H), 8.5-8.2 (br, 2H), 7.6-6.9 (m, 9H), 5.1-4.0 (m, 4H), 3.5-2.3 (m, 4H) MS(SIMS): 364 (M+1)
15	L-Trp	R	凍乾アモルファス状物 IR (KBr, cm ⁻¹): 3400, 2920, 1740, 1645, 1480, 1460, 1120, 870, 745 MS(SIMS): 364 (M+1)
16		S	アモルファス状物 IR (KBr, cm ⁻¹): 3410, 1650, 1460, 1330, 740 ¹ H-NMR(DMSO-d ₆ , d): 11.0 (br, 1H), 7.5-6.9 (m, 9H), 5.5-5.3 (dd-like, 2H), 4.5-4.1 (m, 4H), 3.3-2.8 (m, 5H) MS(SIMS): 374 (M-1)

第6表(その2)

			
実施例 No.	R ¹	3 位立体	物理恒数等
17	L-Phe	S	凍乾アモルファス状物 IR (KBr, cm ⁻¹): 3400, 2920, 1720, 1650, 1490, 1450, 1370, 1120, 870, 750, 700 MS(SIMS): 325(M+1)
18	N(ω)-Z-L-Lys	S	凍乾アモルファス状物 IR (KBr, cm ⁻¹): 3400, 2900; 1720, 1660, 1460, 1230, 1190, 870, 740 MS(SIMS): 440(M+1)

但し、表中 Z- はベンジルオキシカルボニル基を表す。

実施例 19

実施例 7 で得られた化合物 463 mg、O-ベンジルーL-セリン・ベンジルエステル 410 mg、1-ヒドロキシベンゾトリアゾール(一水和物) 184 mg、1-エチルー3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド塩酸塩 230 mg を氷冷下ジメチルホルムアミド 20 ml に溶解し、氷冷下 2 時間さらに室温で 16 時間攪拌した後、反応溶液を減圧濃縮した。残さを酢酸エチルで抽出、洗浄、乾燥、濃縮した。残さをシリカゲルカラムクロマトグラフィー(酢酸エチル:n-ヘキサン=1:1)にて精製し、アモルファス状の N-[(3S)-2-(N-tert-ブチルオキシカルボニルーL-トリプトフィル)-1,2,3,4-テトラヒドロイソキノリン-3-カルボニル]-O-ベンジルーL-セリン・ベンジルエステル 670

mgを得た。

IR(KBr, cm^{-1}): 3305, 2975, 1735, 1660, 1640,
1480, 1450, 1170, 745

MS(SIMS): 731(M+1)

実施例 20

実施例 7 で得られた化合物と L-ロイシン・ベンジルエステルとを実施例 19 と同様に処理して N- {(3S)-2-(N-tert-ブチルオキシカルボニル-L-トリプトフィル)-1,2,3,4-テトラヒドロイソキノリン-3-カルボニル}-L-ロイシン・ベンジルエステルを得た。

m. p.: 99-100°C(分解)

MS(SIMS): 667(M+1)

実施例 21

実施例 19 で得られた化合物を実施例 7 と同様に処理し、生成物をシリカゲルクロマトグラフィー(クロロホルム:メタノール=20:1)にて分離して(1)アモルファス状の N- {(3S)-2-(N-tert-ブチルオキシカルボニル-L-トリプトフィル)-1,2,3,4-テトラヒドロイソキノリン-3-カルボニル}-L-セリン及び(2)アモルファス状の N- {(3S)-2-(N-tert-ブチルオキシカルボニル-L-トリプトフィル)-1,2,3,4-テトラヒドロイソキノリン-3-カルボニル}-O-ベンジル-L-セリンを得た。

(1)

IR(KBr, cm^{-1}): 3315, 2960, 1680, 1640, 1500,
1450, 1165, 745

MS(SIMS): 641(M+1)

(2)

IR(KBr, cm^{-1}): 3335, 2960, 1680, 1635, 1510,
1450, 1430, 1165, 745

MS(SIMS): 551(M+1)

実施例 22

実施例 20 で得られた化合物 1.16 g を 4 M 塩酸-ジオキサン溶液 20 ml に溶解し、窒素雰囲気下、室温で 30 分間攪拌した。反応溶液を減圧濃縮し、残さをエタノールから結晶化して無色粉末状の N- {(3S)-2-L-トリプトフィル-1,2,3,4-テトラヒドロイソキノリン-3-カルボニル}-L-ロイシン・ベンジルエステル 990 mg を得た。

m. p.: 132-134 °C

MS(SIMS): 567(M+1)

実施例 23

N- {(3S)-2-(N-tert-ブチルオキシカルボニル-L-トリプトフィル)-1,2,3,4-テトラヒドロイソキノリン-3-カルボニル}-L-セリンを実施例 13 と同様に処理してアモルファス状の N- {(3S)-2-L-トリプトフィル-1,2,3,4-テトラヒドロイソキノリン-3-カルボニル}-L-セリン・塩酸塩を得た。

IR(KBr, cm^{-1}): 3400, 2940, 1725, 1650, 1450,
745

MS(SIMS): 451(M+1)

実施例 24

実施例 22 で得られた化合物 750 mg をメタノール 50 ml に溶解し、触媒量のパラジウム-炭素を加えた後、溶液を風船圧力のもと室温で 3 時間水素添加した。触媒をろ別してろ液を減圧濃縮し残留物を得た。残留物をエタノールから結晶

化して無色結晶のN- [(3S)-2-L-トリプトフィル-1,2,3,4-テトラヒドロイソキノリン-3-カルボニル]-L-ロイシン塩酸塩650mgを得た。

m. p. : 155℃(分解)

MS(SIMS): 477(M+1)

実施例25

(3S)-2-ベンジルオキシカルボニル-5,8-ジメトキシ-1,2,3,4-テトラヒドロイソキノリン-3-カルボン酸4.5g、L-ロイシン・メチルエステル塩酸塩1.82g、1-ヒドロキシベンゾトリアゾール(一水和物)1.95g、1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド塩酸塩2.44g、トリエチルアミン1.7mlを氷冷下ジメチルホルムアミド35mlに溶解し、氷冷下2時間さらに室温で16時間攪拌した後、反応溶液を減圧濃縮した。残さを酢酸エチルで抽出、洗浄、乾燥、濃縮した。残さをシリカゲルカラムクロマトグラフィー(クロロホルム：酢酸エチル=9：1)にて精製し、無色油状のN- [(3S)-2-ベンジルオキシカルボニル-5,8-ジメトキシ-1,2,3,4-テトラヒドロイソキノリン-3-カルボニル]-L-ロイシン・メチルエステル5.0gを得た。

IR(KBr, cm^{-1}): 3400, 2955, 1740, 1670, 1485, 1260, 1120, 1085

MS(SIMS): 499(M+1)

実施例26

実施例25で得られた化合物700mgをメタノール10mlに溶解し、1M水酸化ナトリウム水溶液2.8mlを加えた後、室温で3時間攪拌した。反応液を減圧濃縮し残留物をエーテル洗浄した後、硫酸水素カリウム水溶液を加えて酸性とし、酢酸エチルで抽出した。抽出液を洗浄、乾燥、濃縮し、アモルファス状のN-

{(3 S)-2-ベンジルオキシカルボニル-5,8-ジメトキシ-1,2,3,4-テトラヒドロイソキノリン-3-カルボニル}-L-ロイシン 470 mg を得た。

IR (KBr, cm^{-1}): 3400, 2960, 1685, 1485, 1260, 1085

MS (SIMS): 485 (M+1)

実施例 27

実施例 25 で得られた化合物 4.0 g をメタノール 40 ml に溶解し、触媒量のパラジウム-炭素を加えた後、溶液を風船圧力のもと室温で 3 時間水素添加した。触媒をろ別し、ろ液を減圧濃縮して残留物を得た。残さをシリカゲルカラムクロマトグラフィー(クロロホルム:酢酸エチル=2:1)にて精製し、得られた無色油状をイソプロピルエーテルから結晶化して無色結晶の N-((3 S)-5,8-ジメトキシ-1,2,3,4-テトラヒドロイソキノリン-3-カルボニル)-L-ロイシン・メチルエステル 2.02 g を得た。

融点: 101-115°C

IR (KBr, cm^{-1}): 3360, 2955, 1735, 1665, 1480, 1255, 1075

MS (SIMS): 365 (M+1)

実施例 28

実施例 27 で得られた化合物 1.5 g、N-ベンジルオキシカルボニル-L-トリプトファン 1.39 g、1-ヒドロキシベンゾトリアゾール(一水和物) 662 mg、1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド塩酸塩 828 mg を氷冷下ジメチルホルムアミド 15 ml に溶解し、氷冷下 2 時間さらに室温下で 16 時間攪拌した後、反応溶液を減圧濃縮した。残さを酢酸エチルで抽出、洗浄、乾燥、濃縮した。結晶性残さを酢酸エチルから結晶化して無色結晶の N-((

(3S)-2-(N-ベンジルオキシカルボニル-L-トリプトフィル)-5,8-ジメトキシ-1,2,3,4-テトラヒドロイソキノリン-3-カルボニル-L-ロイシン・メチルエステル 2.20 g を得た。

m. p. : 130-149°C

IR (KBr, cm^{-1}): 3315, 2955, 1740, 1660, 1530, 1485, 1260, 1085, 745

MS (SIMS): 685 (M+1)

実施例 29

実施例 28 で得られた化合物 350 mg をメタノール 15 ml に溶解し、触媒量のパラジウム-炭素を加えた後、溶液を風船圧力のもと室温で 3 時間水素添加した。触媒をろ別し、ろ液を減圧濃縮して結晶性残さを得た。結晶性残さをイソプロピルエーテルにて洗浄し、アモルファス状の N- {(3S)-2-L-トリプトフィル-5,8-ジメトキシ-1,2,3,4-テトラヒドロイソキノリン-3-カルボニル-L-ロイシン・メチルエステル 170 mg を得た。

IR (KBr, cm^{-1}): 3295, 2955, 1740, 1645, 1485, 1260, 1090, 745

MS (SIMS): 551 (M+1)

実施例 30

実施例 28 で得られた化合物 1.3 g をメタノール 30 ml に溶解し、1 M 水酸化ナトリウム水溶液 3.8 ml を加えた後、室温で 6 時間攪拌した。反応液を減圧濃縮し残留物をエーテル洗浄した後、硫酸水素カリウム水溶液を加えて中性とし、酢酸エチルで抽出した。抽出液を洗浄、乾燥、濃縮し、結晶性残さを得た。結晶性残さをイソプロピルエーテルにて洗浄し、無色粉末状の N- {(3S)-2-(N-ベンジルオキシカルボニル-L-トリプトフィル)-5,8-ジメトキシ-1,2,3,

4-テトラヒドロイソキノリン-3-カルボニル)-L-ロイシン 1.11 g を得た。

m. p. : 152-166 °C

IR (KBr, cm^{-1}) : 3310, 2960, 1700, 1675, 1520, 1485, 1260, 1085, 745

MS (SIMS) : 671 (M+1)

実施例 3 1

実施例 3 0 で得られた化合物 600 mg をメタノール 15 ml に溶解し、触媒量のパラジウム-炭素を加えた後、溶液を風船圧力のもと室温で 3 時間水素添加した。触媒をろ別し、ろ液を減圧濃縮して結晶性残さを得た。結晶性残さをイソプロピルエーテルにて洗浄し、アモルファス状の N-[(3S)-2-L-トリプトフィル-5,8-ジメトキシ-1,2,3,4-テトラヒドロイソキノリン-3-カルボニル]-L-ロイシン 345 mg を得た。

IR (KBr, cm^{-1}) : 3400, 2955, 1655, 1480, 1260, 1085, 745

MS (SIMS) : 537 (M+1)

実施例 3 2 ~ 5 1

多種品目同時固相法自動ペプチド合成装置 P S S M-8 (島津製作所製) を使用し、以下の手順に従ってペプチド合成を行った。ベンゾキシベンジルアルコールタイプの樹脂に対応原料アミノ酸を結合させた担体 (Fmoc-Amino Acid-Resin) 100 mg を用い、縮合系としてベンゾトリアゾール-1-イル-オキシートリス(ピロリジノ)ホスホニウムヘキサフルオロホスフェイト、1-ヒドロキシベンゾトリアゾール、N-メチルモルホリンの系を、脱保護系として 20% ピペリジン/N,N-ジメチルホルムアミドを、縮合アミノ酸として

N- α -9-フルオレンニルカルボニル-1,2,3,4-テトラヒドロイソキノリン-3-カルボン酸とN-tert-ブチルオキシカルボニル-L-トリプトファンを使用して、合成機に装備された標準プロトコルを用いて合成を行った。合成後、1mlのトリフルオロ酢酸：水：チオアニソール：エタンジチオール(75：10：10：5)で3時間処理し、脱保護およびレジンからクリーベージを行った。反応液をろ過してレジンを除き、ろ液に無水ジエチルエーテルを加えて沈澱させるか、或いは濃縮して目的粗ペプチドを得た。得られた粗ペプチドを、水に溶解し、短い逆相カラムを通して精製した後、凍結乾燥して無色粉末状の第7表記載のN-[(3S)-2-L-トリプトフィル-1,2,3,4-テトラヒドロイソキノリン-3-カルボニル]-L-アミノ酸を得た。

第7表

		
実施例No.	R ²	物理恒数等
32	L-Ala	MS(SIMS): 435(M+1)
33	L-Arg	MS(SIMS): 520(M+1)
34	L-Asn	MS(SIMS): 478(M+1)
35	L-Asp	MS(SIMS): 479(M+1)
36	L-Glu	MS(SIMS): 493(M+1)
37	L-Gln	MS(SIMS): 492(M+1)
38	L-Gly	MS(SIMS): 421(M+1)
39	L-His	MS(SIMS): 501(M+1)
40	L-Ile	MS(SIMS): 477(M+1)
41	L-Leu	MS(SIMS): 477(M+1)
42	L-Lys	MS(SIMS): 492(M+1)
43	L-Met	MS(SIMS): 495(M+1)
44	L-Phe	MS(SIMS): 511(M+1)
45	L-Pro	MS(SIMS): 461(M+1)
46	L-Ser	MS(SIMS): 451(M+1)
47	L-Thr	MS(SIMS): 465(M+1)
48	L-Trp	MS(SIMS): 550(M+1)
49	L-Tyr	MS(SIMS): 527(M+1)
50	L-Val	MS(SIMS): 463(M+1)
51	L-Cys	MS(SIMS): 467(M+1)

実施例 5 2

実施例 1 で得た化合物を塩酸-ジオキサン溶液のかわりにトリフルオロ酢酸を用いて実施例 1 3 と同様に処理して、アモルファス状の(3 S)-2-L-トリプトファイル-1, 2, 3, 4-テトラヒドロイソキノリン-3-カルボン酸・ベンジルエステル・トリフルオロ酢酸塩を得た。

IR (KBr, cm^{-1}): 3420, 3035, 1730, 1675, 1460, 1205, 745

MS (SIMS): 454 (M+1)

実施例 5 3

実施例 7 で得られた化合物 2.3 g、N-メチルモルホリン 607 mg をテトラヒドロフラン 20 ml に溶解し、 -15°C でイソブトキシカルボニルクロライド 819 mg を滴下した後、同温で 10 分間攪拌した。飽和アンモニア・テトラヒドロフラン溶液 20 ml を滴下して、 -15°C で 1 時間攪拌した後、反応液を減圧濃縮した。残さをクロロホルムで抽出し、抽出液を洗浄、乾燥、濃縮し、残さをシリカゲルクロマトグラフィー(クロロホルム:メタノール=20:1)にて精製し、アモルファス状の(3 S)-2-(N-tert-ブチルオキシカルボニル-L-トリプトファイル)-1, 2, 3, 4-テトラヒドロイソキノリン-3-カルボキサミド 1.62 g を得た。

IR (KBr, cm^{-1}): 3340, 2980, 1700, 1675, 1630, 1440, 1170, 740

MS (SIMS): 463 (M+1)

実施例 5 4

実施例 5 3 で得られた化合物 1.6 g を実施例 1 3 と同様に処理して、淡赤色粉状の(3 S)-2-(L-トリプトファイル)-1, 2, 3, 4-テトラヒドロイソキノリ

ン-3-カルボキサミド・塩酸塩 1.3 g を得た。

IR (KBr, cm^{-1}): 3425, 2900, 1675, 1630, 1480,
1460, 1360, 1120, 745

MS (SIMS): 363 ($M+1$)

実施例 55

実施例 53 で得られた化合物を塩酸-ジオキサン溶液のかわりにトリフルオロ酢酸を用いて実施例 13 と同様に処理して、淡赤色粉状の (3S)-2-(L-トリプトファイル)-1,2,3,4-テトラヒドロイソキノリン-3-カルボキサミド・トリフルオロ酢酸塩を得た。

MS (SIMS): 363 ($M+1$)

実施例 56

(1) 0.5% グルコース(ナカライ株式会社製)、2% ソーヤフラワーA(日清製油株式会社製)、2% グリセロール(ナカライ株式会社製)、0.2% 酵母エキス(アサヒビール株式会社製)、0.25% 塩化ナトリウム(ナカライ株式会社製)、0.4% 炭酸カルシウム(日東粉化株式会社製)からなる液体培地(pH 7.0) 100 ml に、寒天斜面に培養した *Aspergillus* sp. A374 株(FERM BP-6113)を一白金耳接種し、27℃で3日間振盪培養した。

得られた培養液を種培養液として使用した。上述の組成の液体培地 100 ml を含む三角フラスコ 100 本に種培養液 1 ml ずつ接種し、27℃で5日間振盪培養した。

(2) 上記(1)の方法によって得られた培養液 85 L からろ過によって菌体を除去し、培養液を 3 L のダイヤイオン HP-20 (三菱化学株式会社製) カラムを通過させ、TMC-2A、TMC-2B および TMC-2C をカラムに吸着させた。上記カラムに蒸留水、20%、50% および 100% メタノールそれぞれ 5 L、30

L、75 L、30 Lを流下させた。ジペプチジルペプチダーゼ I V 阻害活性を示す 50%メタノール画分を減圧濃縮して粗物質を得た。この粗物質をシリカゲル(ワコーゲル C-300、和光純薬株式会社製、60×900 mm)を用いてクロマトグラフィーを行った。溶出は、まずジクロロメタン：メタノール：エタノール(10：4：4)混液 5 L、ついでジクロロメタン：メタノール：エタノール：水混液を以下のように順次水の比率をあげて行った。すなわち、ジクロロメタン：メタノール：エタノール：水の混液をそれぞれ 10：4：4：0.1 溶液 5 L、10：4：4：0.2 溶液 5 L、10：4：4：0.5 溶液 10 L、10：4：4：1 溶液 10 L、最後に 10：4：4：2 溶液 10 L によって溶出した。ジペプチジルペプチダーゼ I V 阻害活性を示す画分を集め、減圧濃縮して粗物質を得た。

この粗物質を逆相シリカゲルカラム(ODS A60、ワイエムシー株式会社製、60×900 mm)を用いて、クロマトグラフィーを行った。溶出は、20%アセトニトリル-80%水を用いて行った。各溶出画分を高速液体クロマトグラフィーで分析し、TMC-2 Aのみを含む画分を集め、減圧濃縮後凍結乾燥した。分析用高速液体クロマトグラフィは、YMC-Pack AM-301-3(ワイエムシー株式会社製) 4.6×100 mmカラムを用い、アセトニトリル 10%から 35%まで 15 分間のリニアグラジエント(流量 1.2 ml/min)によって行った。なお、検出は 210 nm および 254 nm の吸光度によった。以上の操作によって、純粋な TMC-2 A 約 1.6 g を得ることができた。

TMC-2 B と TMC-2 C の精製は、以下のように行った。上記の逆相クロマトグラフィにおいて TMC-2 B と TMC-2 C を含む画分を集め、減圧濃縮した。濃縮物をシリカゲルクロマトグラフィ(ワコーゲル C-300、和光純薬株式会社、22×500 mm)を用いて TMC-2 B と TMC-2 C を分画した。溶出は、ジクロロメタン：メタノール：エタノール(10：4：4)混液 500 ml を流

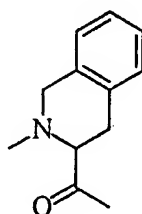
下させた後、ジクロロメタン：メタノール：エタノール：水の混液をそれぞれ10：4：4：0.1溶液200ml、10：4：4：0.2溶液200ml、10：4：4：0.5溶液200ml、10：4：4：1溶液500mlおよび10：4：4：2溶液500mlを順次流下させた。各溶出画分をシリカゲルTLC(シリカゲル；メルク社 No. 5715、展開溶媒；ジクロロメタン：メタノール：エタノール：水=10：4：4：2)によって分析した。TMC-2BまたはTMC-2Cのみを含む画分をそれぞれ濃縮乾固した。以上の操作によって、純粋なTMC-2BおよびTMC-2Cをそれぞれ5.4mgおよび21mg得ることができた。

産業上の利用可能性

本発明のテトラヒドロイソキノリン誘導体は、低濃度において選択的にジペプチジルペプチダーゼIVを阻害し、関節炎、慢性関節リウマチなどの自己免疫疾患(免疫異常症や免疫不全症)の予防・治療剤として有用である。

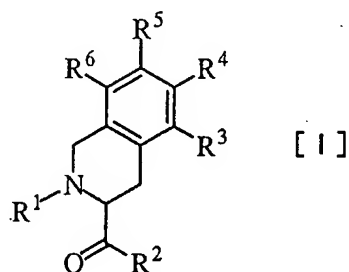
請 求 の 範 囲

1. ジペプチジルペプチダーゼ I V 阻害作用を有し、かつテトラヒドロイソキノリン骨格を有する化合物又はその薬理的に許容しうる塩を有効成分としてなる医薬組成物。
2. ジペプチジルペプチダーゼ I V 阻害作用を有し、かつ式：



で示される部分構造を含む化合物又はその薬理的に許容しうる塩を有効成分としてなる医薬組成物。

3. 一般式 [I] :



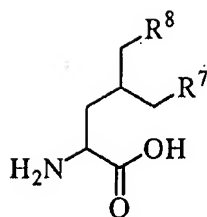
(式中、R¹は(1)アミノ原子団が保護されていてもよいアミノ酸からカルボキシ原子団のヒドロキシ原子団を取り去った構造を有する基又は(2)アミノ基の保護基、R²は(1)保護されていてもよい水酸基、(2)カルボキシ原子団が保護されていてもよいアミノ酸からアミノ原子団の水素原子を1つ取り去った構造を有する基又は(3)1級もしくは2級アミン又はアンモニアから窒素原子上の水素原子を1つ取り去った構造を有する基、R³、R⁴、R⁵及びR⁶は同一又は異なって水素原

子、水酸基又は低級アルコキシ基を表す)

で示されるテトラヒドロイソキノリン誘導体又はその薬理的に許容しうる塩を有効成分としてなる医薬組成物。

4. R^1 が(1)アリールオキシカルボニル基、アリール基置換低級アルコキシカルボニル基もしくは低級アルコキシカルボニル基でアミノ原子団が保護されていてもよいアミノ酸からカルボキシ原子団のヒドロキシ原子団を取り去った構造を有する基又は(2)アリールオキシカルボニル基、アリール基置換低級アルコキシカルボニル基もしくは低級アルコキシカルボニル基、 R^2 が(1)アリール基置換低級アルキル基で置換されていてもよい水酸基、(2)低級アルキルもしくはアリール基置換低級アルキルでカルボキシ原子団が保護されていてもよいアミノ酸からアミノ原子団の水素原子を1つ取り去った構造を有する基又は(3)低級アルキル又はアリール置換低級アルキルから選ばれる基1つもしくは2つで置換されていてもよいアミノ基、 R^3 、 R^4 、 R^5 及び R^6 が同一又は異なって水素原子、水酸基又は低級アルコキシ基である請求項3記載の医薬組成物。

5. R^1 が(1)ベンジルオキシカルボニル基もしくはtert-ブトキシカルボニル基でアミノ原子団が保護されていてもよいトリプトフィル基、リジル基もしくはフェニルアラニル基又は(2)ベンジルオキシカルボニル基もしくはtert-ブトキシカルボニル基、 R^2 が(1)ベンジル基で保護されていてもよい水酸基、(2)メチル基もしくはベンジル基でカルボキシ原子団が保護されていてもよい、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、プロリン、フェニルアラニン、トリプトファン、メチオニン、グリシン、セリン、O-ベンジル-セリン、トレオニン、システイン、グルタミン、アスパラギン、チロシン、リジン、アルギニン、ヒスチジン、アスパラギン酸、グルタミン酸及び式：



(式中、 R^7 及び R^8 は一方が水酸基、他方が水素原子又は水酸基を表す)

から選ばれる α -アミノ酸の α -アミノ原子団の水素原子を一つ取り去った構造を有する基又は(3)tert-ブチル基又はベンジル基から選ばれる基1つもしくは2つで置換されてもよいアミノ基、 R^3 が水素原子又は低級アルコキシ基、 R^4 が水素原子又は水酸基、 R^5 が水素原子又は低級アルコキシ基、 R^6 が水素原子、水酸基又は低級アルコキシ基である請求項4記載の医薬組成物。

6. R^1 がトリプトフィル基、 R^2 が(1)水酸基、(2)アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、プロリン、フェニルアラニン、トリプトファン、メチオニン、グリシン、セリン、トレオニン、システイン、グルタミン、アスパラギン、チロシン、リジン、アルギニン、ヒスチジン、アスパラギン酸及びグルタミン酸から選ばれる α -アミノ酸から α -アミノ原子団の水素原子を1つ取り去った構造を有する基又は(3)アミノ基、 R^3 、 R^4 、 R^5 及び R^6 が水素原子である請求項5記載の医薬組成物。

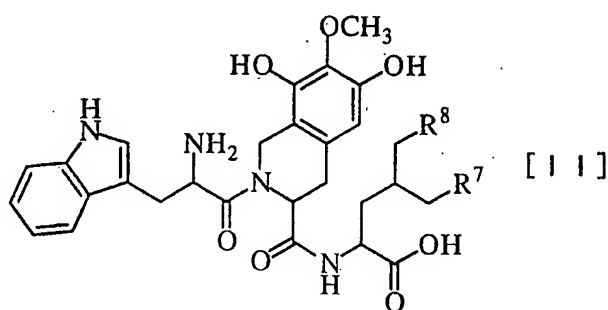
7. R^1 がトリプトフィル基、 R^2 が(1)水酸基、(2)グルタミン、セリン、アスパラギン酸、グルタミン酸、アラニン、システイン、アルギニン、メチオニン及びアスパラギンから選ばれる α -アミノ酸から α -アミノ原子団の水素原子を1つ取り去った構造を有する基又は(3)アミノ基、 R^3 、 R^4 、 R^5 及び R^6 が水素原子である請求項6記載の医薬組成物。

8. R^1 がトリプトフィル基、 R^2 が(1)水酸基、(2)グルタミン及びセリンから選ばれる α -アミノ酸から α -アミノ原子団の水素原子を1つ取り去った構

造を有する基又は(3)アミノ基、 R^3 、 R^4 、 R^5 及び R^6 が水素原子である請求項7記載の医薬組成物。

9. 2-L-トリプトフィル-1,2,3,4-テトラヒドロイソキノリル-3-カルボン酸及びその薬理的に許容しうる塩を有効成分としてなる医薬組成物。

10. 一般式[II]：



(式中、 R^7 及び R^8 は一方が水酸基、他方が水素原子又は水酸基を表す)

で示されるテトラヒドロイソキノリン誘導体又はその薬理的に許容しうる塩を有効成分としてなる医薬組成物。

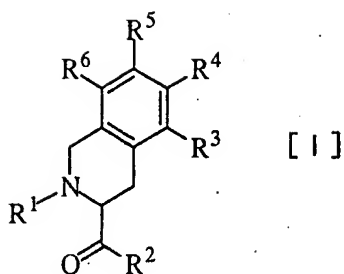
11. ジペプチジルペプチダーゼIV阻害剤である請求項3、4、5、6、7、8、9又は10記載の医薬組成物。

12. 自己免疫疾患の予防・治療剤である請求項1、2、3、4、5、6、7、8、9又は10記載の医薬組成物。

13. 関節炎の予防・治療剤である請求項1、2、3、4、5、6、7、8、9又は10記載の医薬組成物。

14. 慢性関節リウマチの予防・治療剤である請求項1、2、3、4、5、6、7、8、9又は10記載の医薬組成物。

15. 一般式[I]：



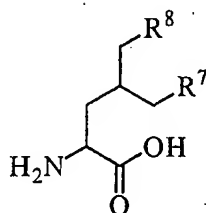
(式中、R¹は(1)アミノ原子団が保護されていてもよいアミノ酸からカルボキシ原子団のヒドロキシ原子団を取り去った構造を有する基又は(2)アミノ基の保護基、R²は(1)保護されていてもよい水酸基、(2)カルボキシ原子団が保護されていてもよいアミノ酸からアミノ原子団の水素原子を1つ取り去った構造を有する基又は(3)1級もしくは2級アミン又はアンモニアから窒素原子上の水素原子を1つ取り去った構造を有する基、R³、R⁴、R⁵及びR⁶は同一又は異なって水素原子、水酸基又は低級アルコキシ基を表す)

で示されるテトラヒドロイソキノリン誘導体又はその薬理的に許容しうる塩。

16. R¹が(1)アリールオキシカルボニル基、アリール基置換低級アルコキシカルボニル基もしくは低級アルコキシカルボニル基でアミノ原子団が保護されていてもよいアミノ酸からカルボキシ原子団のヒドロキシ原子団を取り去った構造を有する基又は(2)アリールオキシカルボニル基、アリール基置換低級アルコキシカルボニル基もしくは低級アルコキシカルボニル基、R²が(1)アリール基置換低級アルキル基で置換されていてもよい水酸基、(2)低級アルキルもしくはアリール基置換低級アルキルでカルボキシ原子団が保護されていてもよいアミノ酸からアミノ原子団の水素原子を1つ取り去った構造を有する基又は(3)低級アルキル又はアリール置換低級アルキルから選ばれる基1つもしくは2つで置換されていてもよいアミノ基、R³、R⁴、R⁵及びR⁶が同一又は異なって水素原子、水酸基又は低級アルコキシ基である請求項15記載のテトラヒドロイソキノリン誘導体又はその薬

理的に許容しうる塩。

17. R^1 が(1)ベンジルオキシカルボニル基もしくはtert-ブトキシカルボニル基でアミノ原子団が保護されていてもよいトリプトフィル基、リジル基もしくはフェニルアラニル基又は(2)ベンジルオキシカルボニル基もしくはtert-ブトキシカルボニル基、 R^2 が(1)ベンジル基で保護されていてもよい水酸基、(2)メチル基もしくはベンジル基でカルボキシ原子団が保護されていてもよい、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、プロリン、フェニルアラニン、トリプトファン、メチオニン、グリシン、セリン、O-ベンジルセリン、トレオニン、システイン、グルタミン、アスパラギン、チロシン、リジン、アルギニン、ヒスチジン、アスパラギン酸、グルタミン酸及び式：



(式中、 R^7 及び R^8 は一方が水酸基、他方が水素原子又は水酸基を表す)

から選ばれる α -アミノ酸の α -アミノ原子団の水素原子を一つ取り去った構造を有する基又は(3)tert-ブチル基又はベンジル基から選ばれる基1つもしくは2つで置換されてもよいアミノ基、 R^3 が水素原子又は低級アルコキシ基、 R^4 が水素原子又は水酸基、 R^5 が水素原子又は低級アルコキシ基、 R^6 が水素原子、水酸基又は低級アルコキシ基である請求項16記載のテトラヒドロイソキノリン誘導体又はその薬理的に許容しうる塩。

18. R^1 がトリプトフィル基、 R^2 が(1)水酸基、(2)アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、プロリン、フェニルアラニン、トリプトファン、メチオニン、グリシン、セリン、トレオニン、システイン、グルタミン、アスパラギン、

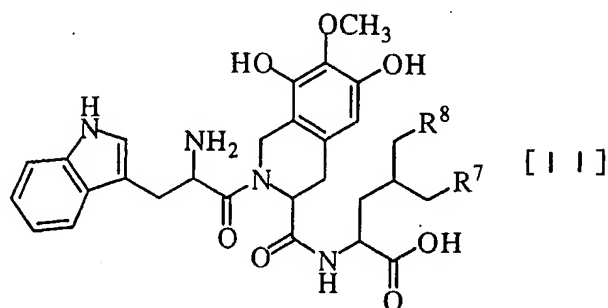
チロシン、リジン、アルギニン、ヒスチジン、アスパラギン酸及びグルタミン酸から選ばれる α -アミノ酸から α -アミノ原子団の水素原子を1つ取り去った構造を有する基又は(3)アミノ基、 R^3 、 R^4 、 R^5 及び R^6 が水素原子である請求項17記載のテトラヒドロイソキノリン誘導体又はその薬理的に許容しうる塩。

19. R^1 がトリプトフィル基、 R^2 が(1)水酸基、(2)グルタミン、セリン、アスパラギン酸、グルタミン酸、アラニン、システイン、アルギニン、メチオニン及びアスパラギンから選ばれる α -アミノ酸から α -アミノ原子団の水素原子を1つ取り去った構造を有する基又は(3)アミノ基、 R^3 、 R^4 、 R^5 及び R^6 が水素原子である請求項18記載のテトラヒドロイソキノリン誘導体又はその薬理的に許容しうる塩。

20. R^1 がトリプトフィル基、 R^2 が(1)水酸基、(2)グルタミン及びセリンから選ばれる α -アミノ酸から α -アミノ原子団の水素原子を1つ取り去った構造を有する基又は(3)アミノ基、 R^3 、 R^4 、 R^5 及び R^6 が水素原子である請求項19記載のテトラヒドロイソキノリン誘導体又はその薬理的に許容しうる塩。

21. 2-L-トリプトフィル-1,2,3,4-テトラヒドロイソキノリル-3-カルボン酸及びその薬理的に許容しうる塩。

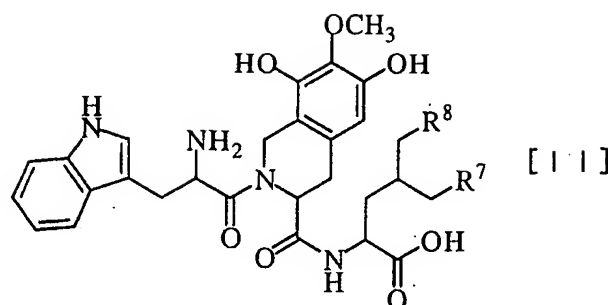
22. 一般式[II]：



(式中、 R^7 及び R^8 は一方が水酸基、他方が水素原子又は水酸基を表す)

で示されるテトラヒドロイソキノリン誘導体又はその薬理的に許容しうる塩。

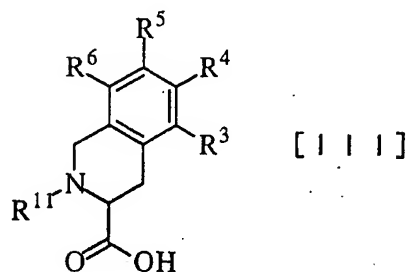
23. 一般式[I I]:



(式中、R⁷及びR⁸は一方が水酸基、他方が水素原子又は水酸基を表す)

で示されるテトラヒドロイソキノリン誘導体の生産能を有し、アスペルギルス属に属するカビを資化可能な炭素源および窒素源を含有する栄養培地で培養し、その培養物から化合物[I I]を単離することを特徴とするテトラヒドロイソキノリン誘導体の製法。

24. 一般式[I I I]:



(式中、R¹¹は(1)少なくともアミノ原子団が保護されているアミノ酸からカルボキシ原子団のヒドロキシ原子団を取り去った構造を有する基又は(2)アミノ基の保護基、R³、R⁴、R⁵及びR⁶は同一又は異なって水素原子、水酸基又は低級アルコキシ基を表す)

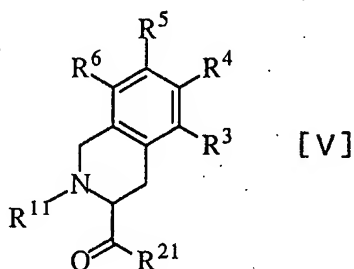
で示される化合物又はそのカルボキシ基における反応性誘導体と一般式[I V]:



(式中、R²¹は(1)少なくともカルボキシ原子団が保護されているアミノ酸からア

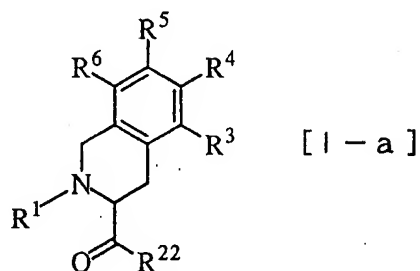
ミノ原子団の水素原子を1つ取り去った構造を有する基又は(2)1級もしくは2級アミン又はアンモニアから窒素原子上の水素原子を1つ取り去った構造を有する基を表す)

で示される化合物とを縮合させることにより一般式[V]:



(式中、R¹¹、R²¹、R³、R⁴、R⁵及びR⁶は上記と同一意味を有する)

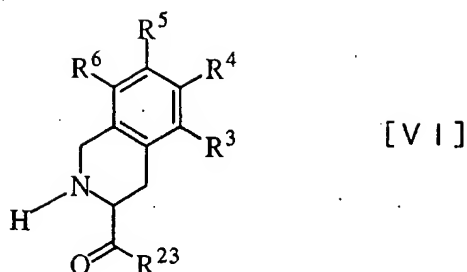
で示される化合物を製し、所望により保護基を除去することを特徴とする一般式[I-a]:



(式中、R¹は(1)アミノ原子団が保護されていてもよいアミノ酸からカルボキシ原子団のヒドロキシ原子団を取り去った構造を有する基又は(2)アミノ基の保護基、R²²は(1)カルボキシ原子団が保護されていてもよいアミノ酸からアミノ原子団の水素原子を1つ取り去った構造を有する基又は(2)1級もしくは2級アミン又はアンモニアから窒素原子上の水素原子を1つ取り去った構造を有する基、R³、R⁴、R⁵及びR⁶は上記と同一意味を有する)

で示される化合物の製法。

25. 一般式[VI]:



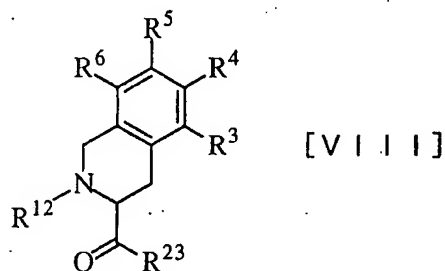
(式中、 R^{23} は(1)保護されている水酸基、(2)少なくともカルボキシ原子団が保護されているアミノ酸からアミノ原子団の水素原子を1つ取り去った構造を有する基又は(3)1級もしくは2級アミン又はアンモニアから窒素原子上の水素原子を1つ取り去った構造を有する基、 R^3 、 R^4 、 R^5 及び R^6 は同一又は異なって水素原子、水酸基又は低級アルコキシ基を表す)

で示される化合物と一般式[VII]：



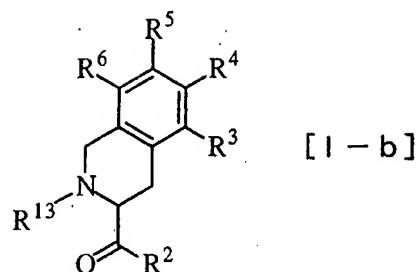
(式中、 R^{12} は少なくともアミノ原子団が保護されているアミノ酸からカルボキシ原子団のヒドロキシ原子団を取り去った構造を有する基を表す)

で示されるアミノ酸又はそのカルボキシ基における反応性誘導体とを縮合させることにより一般式[VIII]：



(式中、 R^{12} 、 R^{23} 、 R^3 、 R^4 、 R^5 及び R^6 は上記と同一意味を有する)

で示される化合物を製し、所望により保護基を除去することを特徴とする一般式[I-b]：

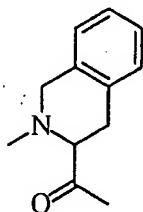


(式中、 R^{13} はアミノ原子団が置換されていてもよいアミノ酸からカルボキシ原子団のヒドロキシ原子団を取り去った構造を有する基、 R^2 は(1)保護されていてもよい水酸基、(2)カルボキシ原子団が保護されていてもよいアミノ酸からアミノ原子団の水素原子を1つ取り去った構造を有する基又は(3)1級もしくは2級アミン又はアンモニアから窒素原子上の水素原子を1つ取り去った構造を有する基、 R^3 、 R^4 、 R^5 及び R^6 は上記と同一意味を有する)

で示される化合物の製法。

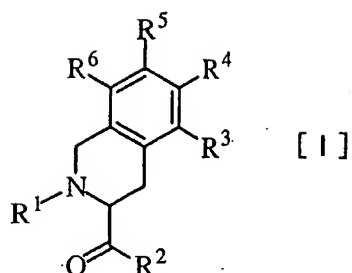
26. 自己免疫疾患患者に、有効量のジペプチジルペプチダーゼIV阻害作用を有し、かつテトラヒドロイソキノリン骨格を有する化合物又はその薬理的に許容しうる塩を投与することを特徴とする自己免疫疾患の予防または治療方法。

27. 該化合物またはその薬理的に許容しうる塩が、式：



で示される部分構造を含む化合物又はその薬理的に許容しうる塩である請求項26記載の自己免疫疾患の予防または治療方法。

28. 自己免疫疾患患者に、有効量の、一般式[I]：



(式中、 R^1 は(1)アミノ原子団が保護されていてもよいアミノ酸からカルボキシ原子団のヒドロキシ原子団を取り去った構造を有する基又は(2)アミノ基の保護基、 R^2 は(1)保護されていてもよい水酸基、(2)カルボキシ原子団が保護されていてもよいアミノ酸からアミノ原子団の水素原子を1つ取り去った構造を有する基又は(3)1級もしくは2級アミン又はアンモニアから窒素原子上の水素原子を1つ取り去った構造を有する基、 R^3 、 R^4 、 R^5 及び R^6 は同一又は異なって水素原子、水酸基又は低級アルコキシ基を表す)

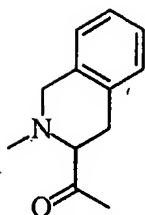
で示されるテトラヒドロイソキノリン誘導体又はその薬理的に許容しうる塩を投与することを特徴とする自己免疫疾患の予防または治療方法。

29. 関節炎の予防・治療方法である請求項26、27または28記載の方法。

30. 慢性関節リウマチの予防・治療方法である請求項26、27または28記載の方法。

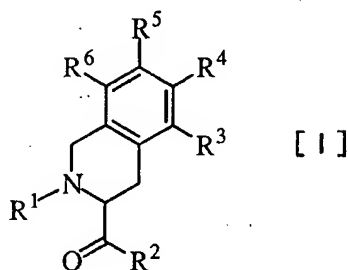
31. ジペプチジルペプチダーゼIV阻害作用を有し、かつテトラヒドロイソキノリン骨格を有する化合物又はその薬理的に許容しうる塩の自己免疫疾患の予防または治療への使用。

32. 該化合物またはその薬理的に許容しうる塩が、ジペプチジルペプチダーゼIV阻害作用を有し、かつ式：



で示される部分構造を含む化合物又はその薬理的に許容しうる塩である請求項 3 1 記載の使用。

3 3. 一般式 [I] :



(式中、 R^1 は(1)アミノ原子団が保護されていてもよいアミノ酸からカルボキシ原子団のヒドロキシ原子団を取り去った構造を有する基又は(2)アミノ基の保護基、 R^2 は(1)保護されていてもよい水酸基、(2)カルボキシ原子団が保護されていてもよいアミノ酸からアミノ原子団の水素原子を1つ取り去った構造を有する基又は(3)1級もしくは2級アミン又はアンモニアから窒素原子上の水素原子を1つ取り去った構造を有する基、 R^3 、 R^4 、 R^5 及び R^6 は同一又は異なって水素原子、水酸基又は低級アルコキシ基を表す)

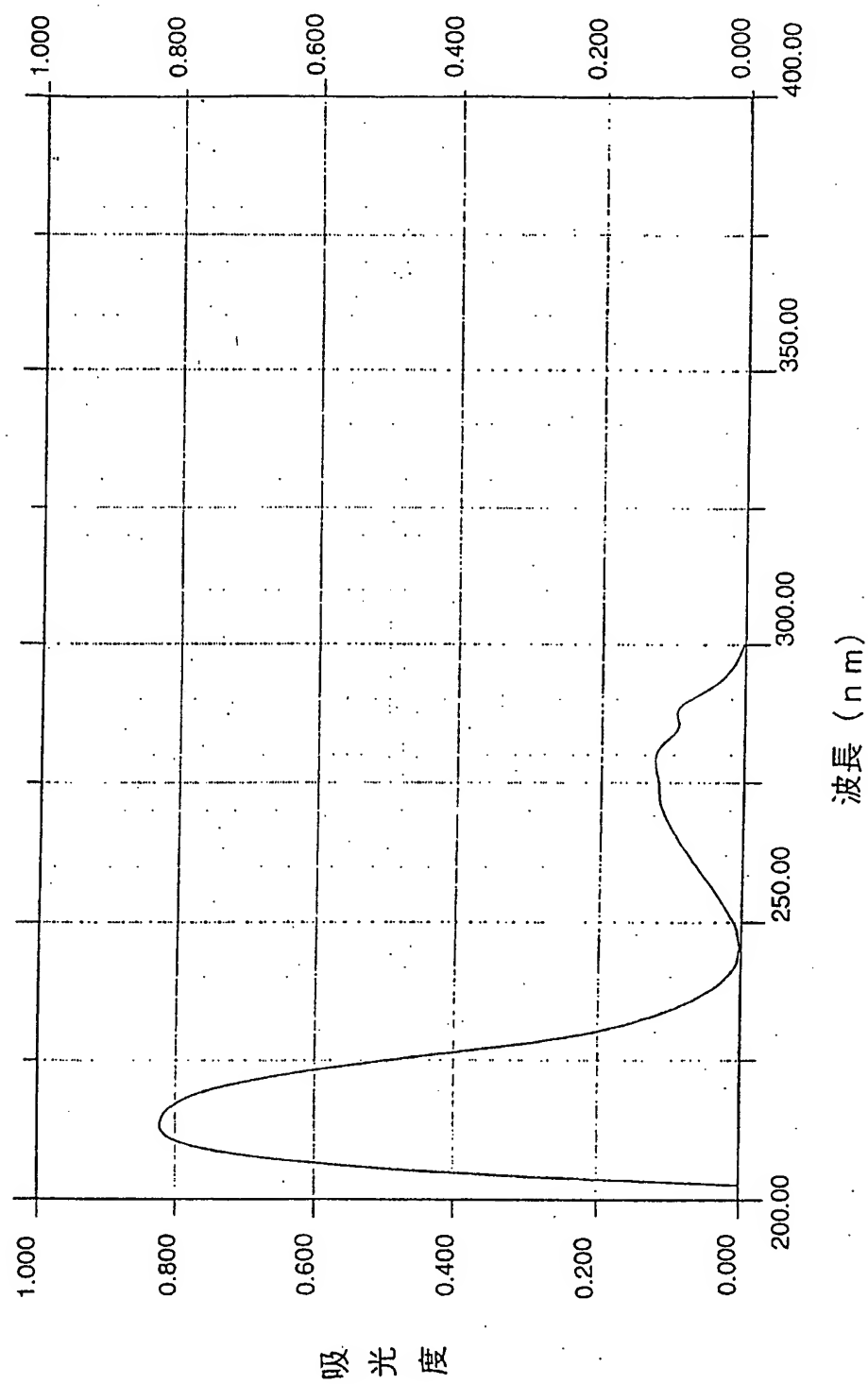
で示されるテトラヒドロイソキノリン誘導体又はその薬理的に許容しうる塩の自己免疫疾患の予防または治療への使用。

3 4. 関節炎の予防・治療への使用である請求項 3 1、3 2 または 3 3 記載の使用。

3 5. 慢性関節リウマチの予防・治療への使用である請求項 3 1、3 2 または 3 3 記載の使用。

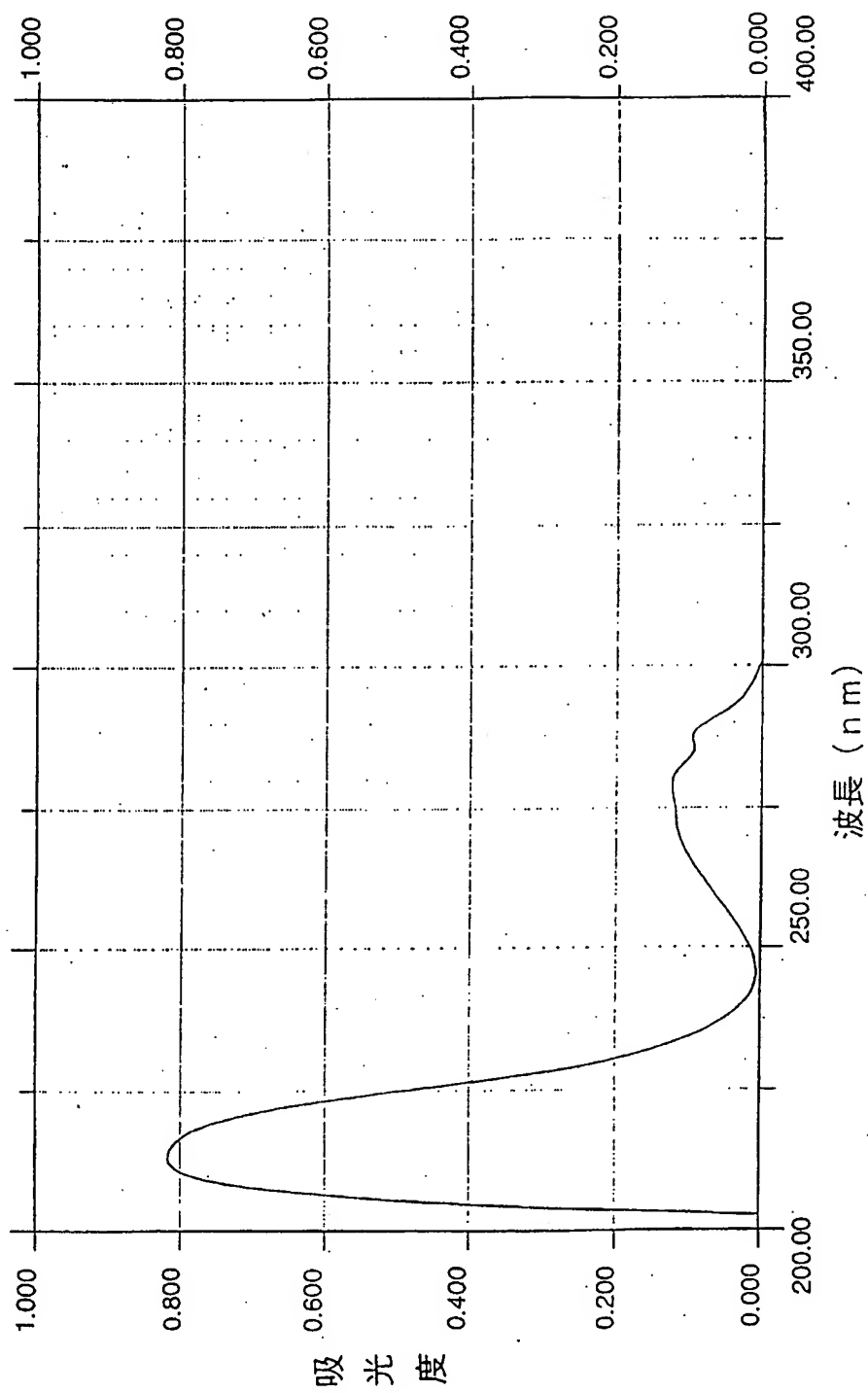
1 / 14

図 1



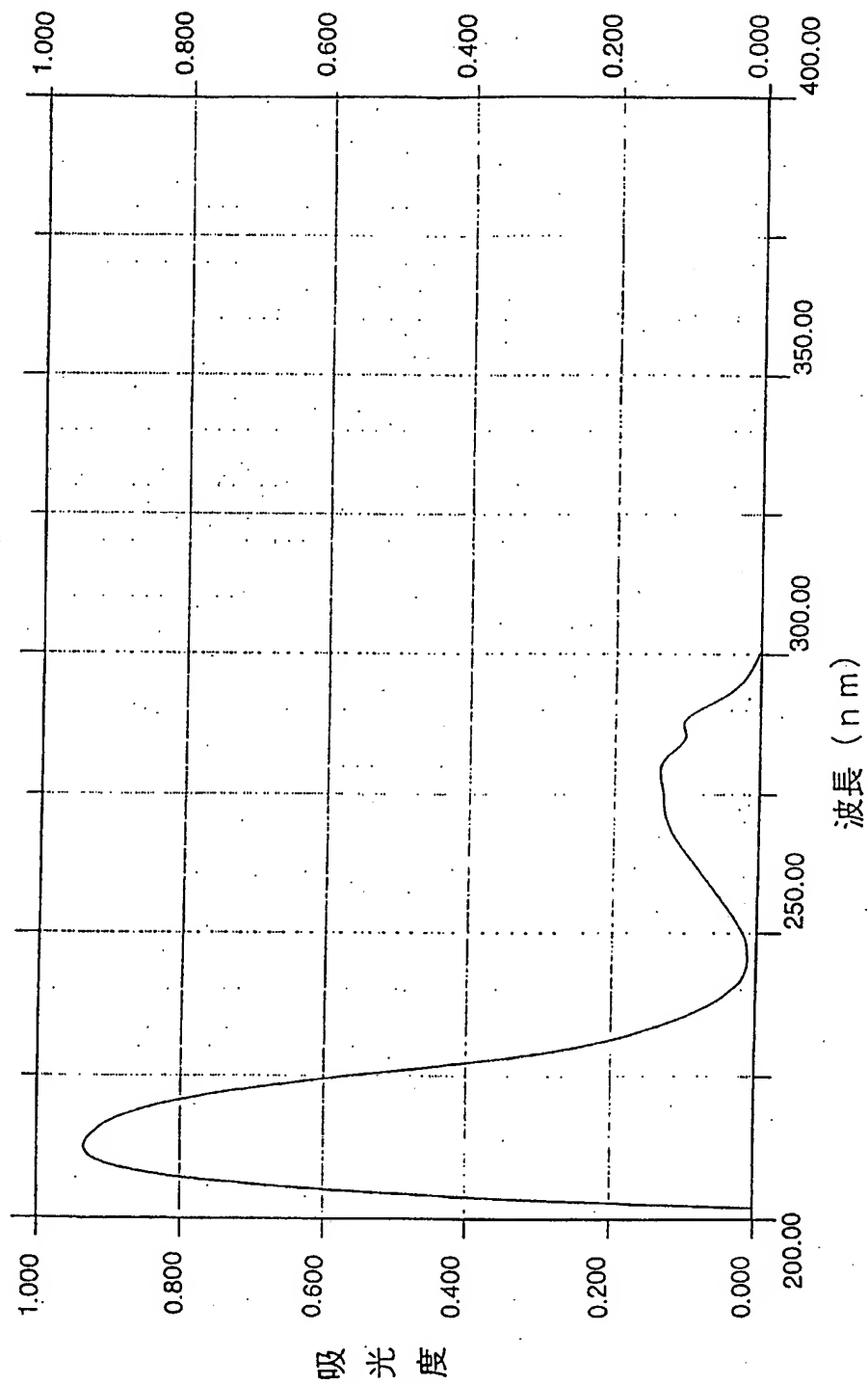
2 / 14

図 2



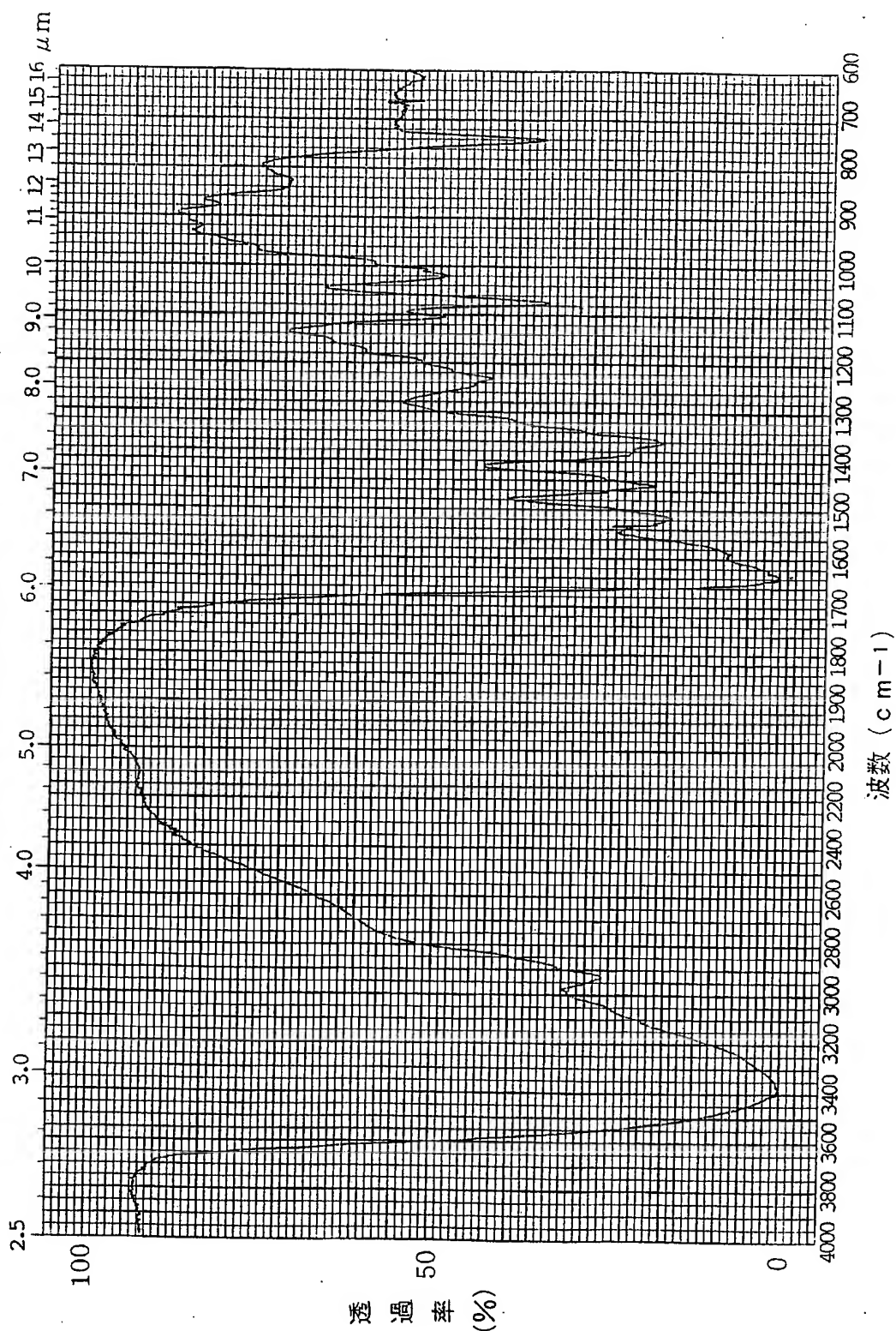
3 / 14

図 3



4 / 1 4

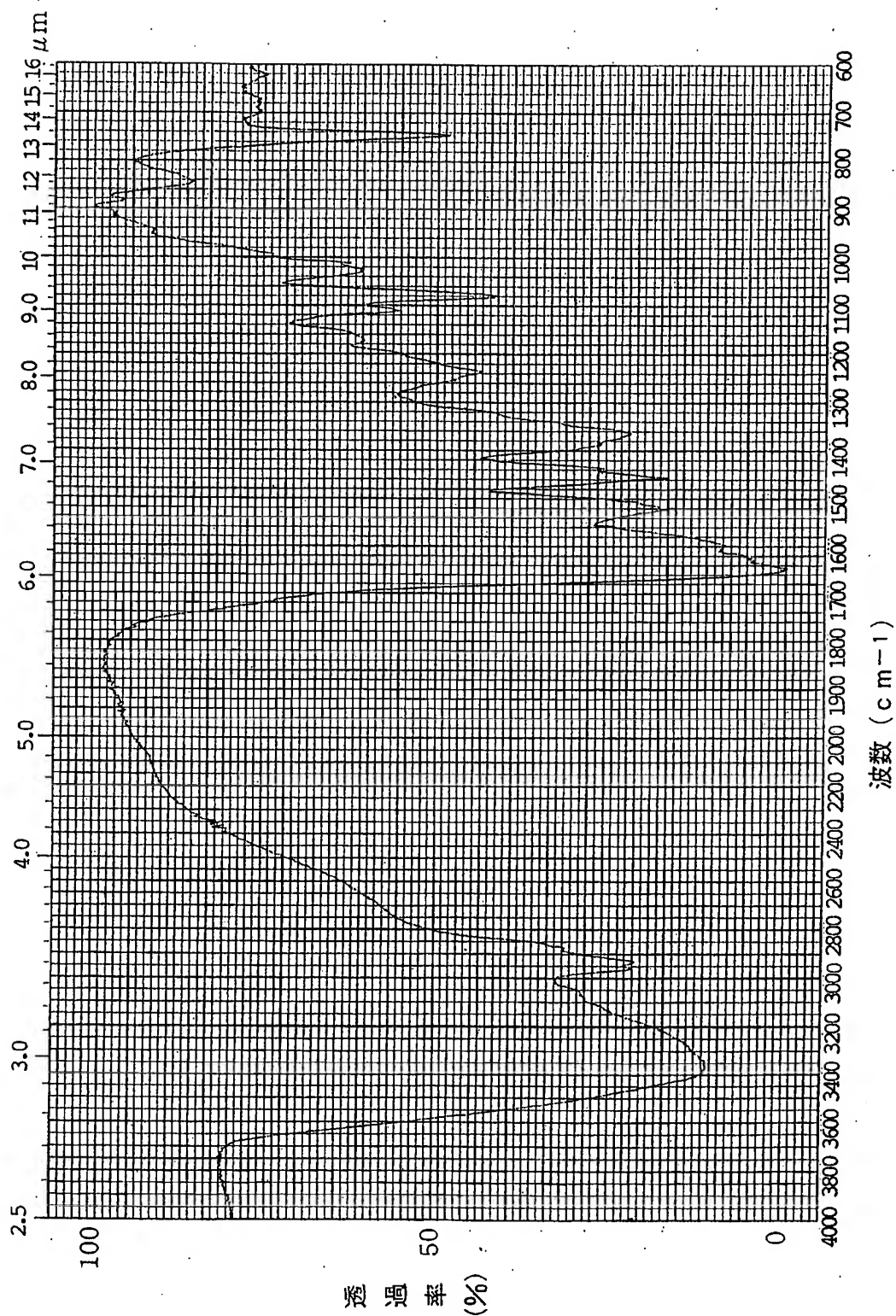
図 4



差替え用紙(規則26)

5 / 14

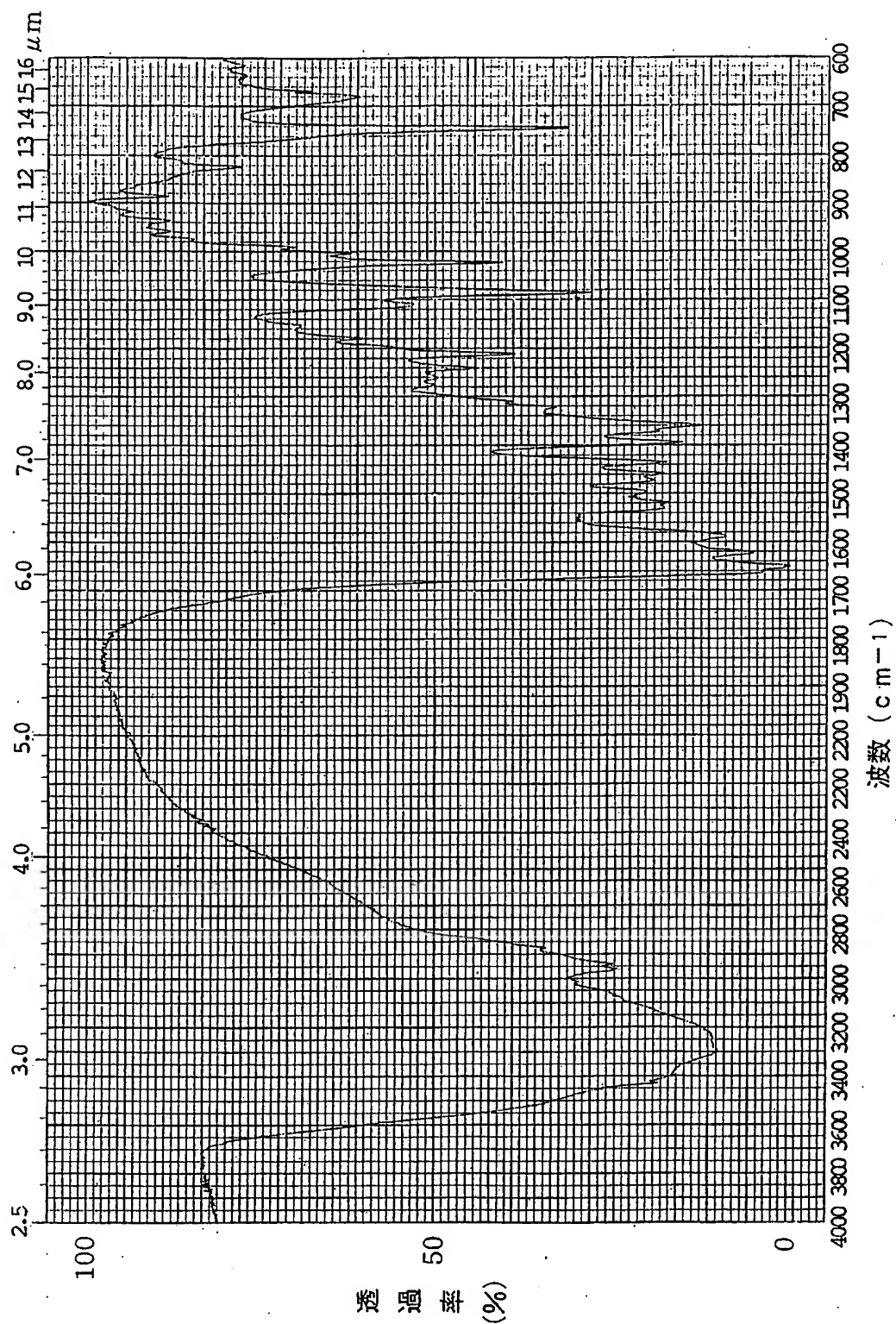
図 5



差替え用紙(規則26)

6 / 14

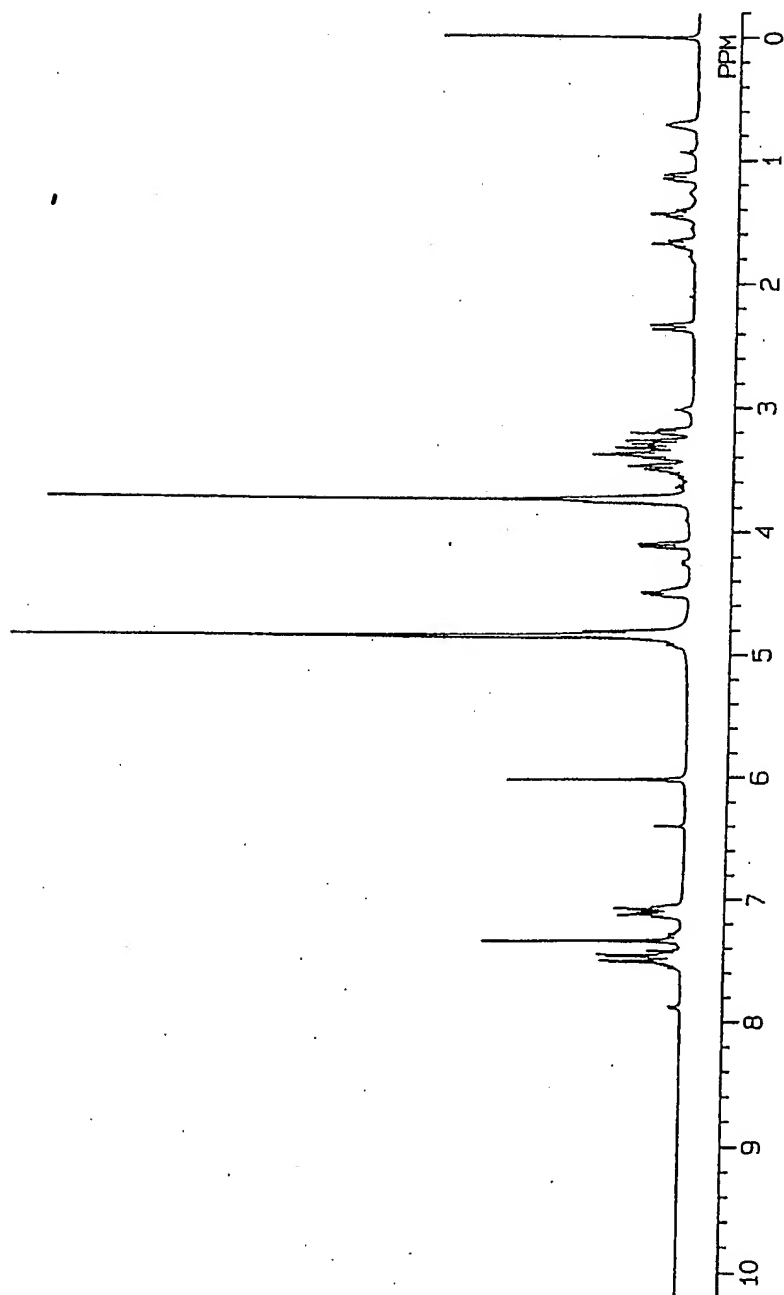
図 6



差替え用紙 (規則26)

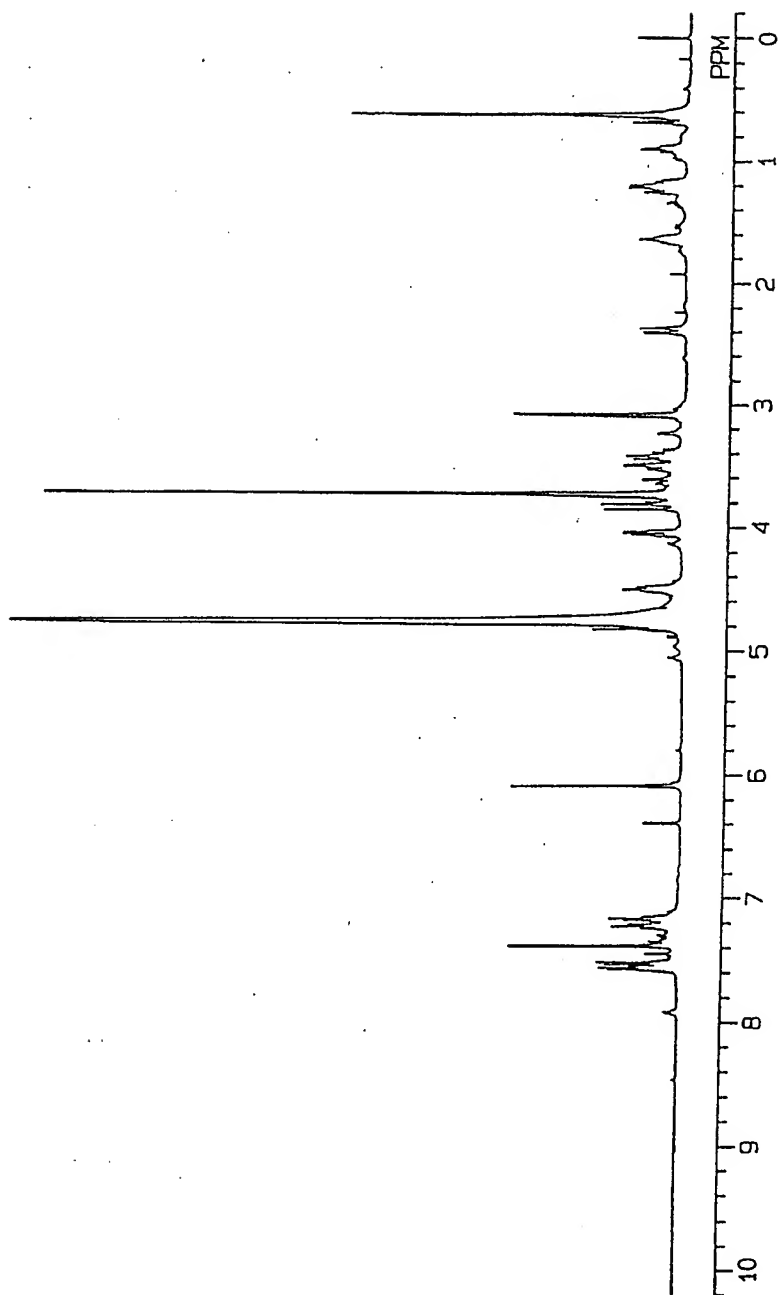
7 / 14

☒ 7



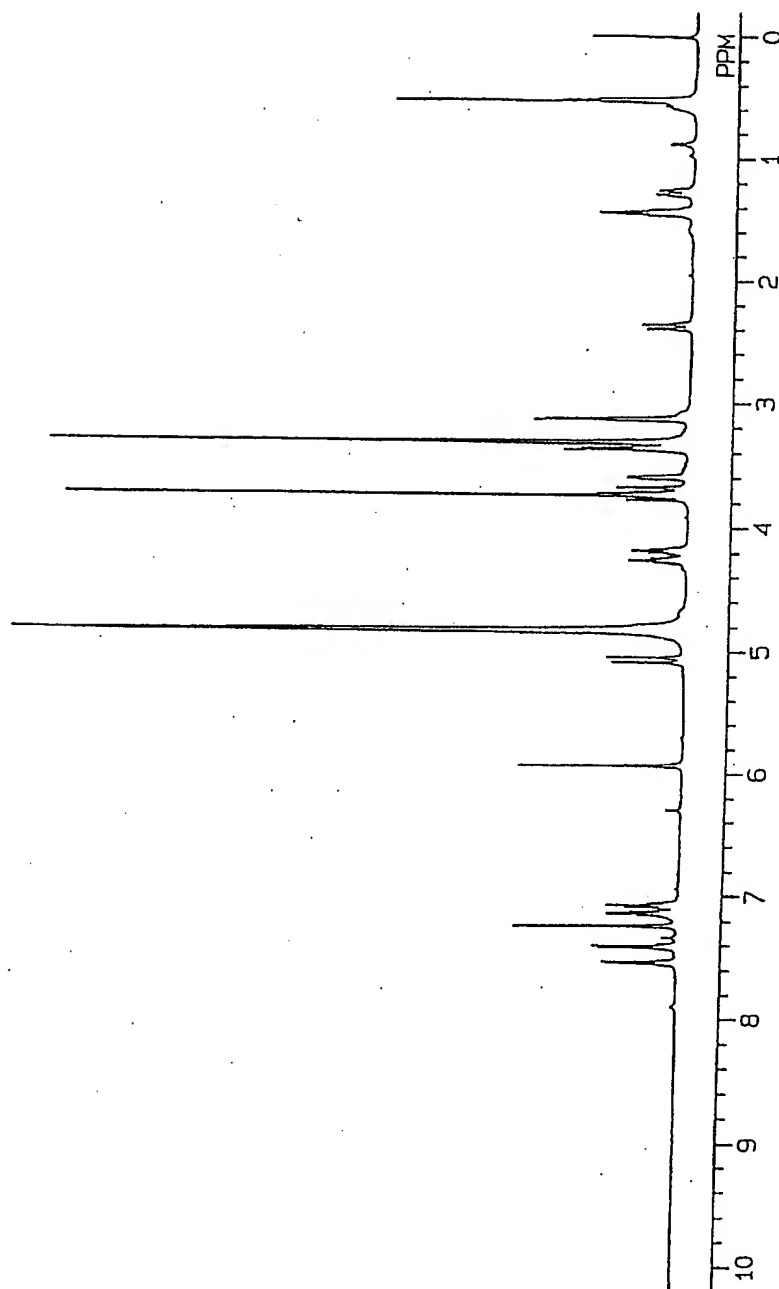
8 / 14

図 8



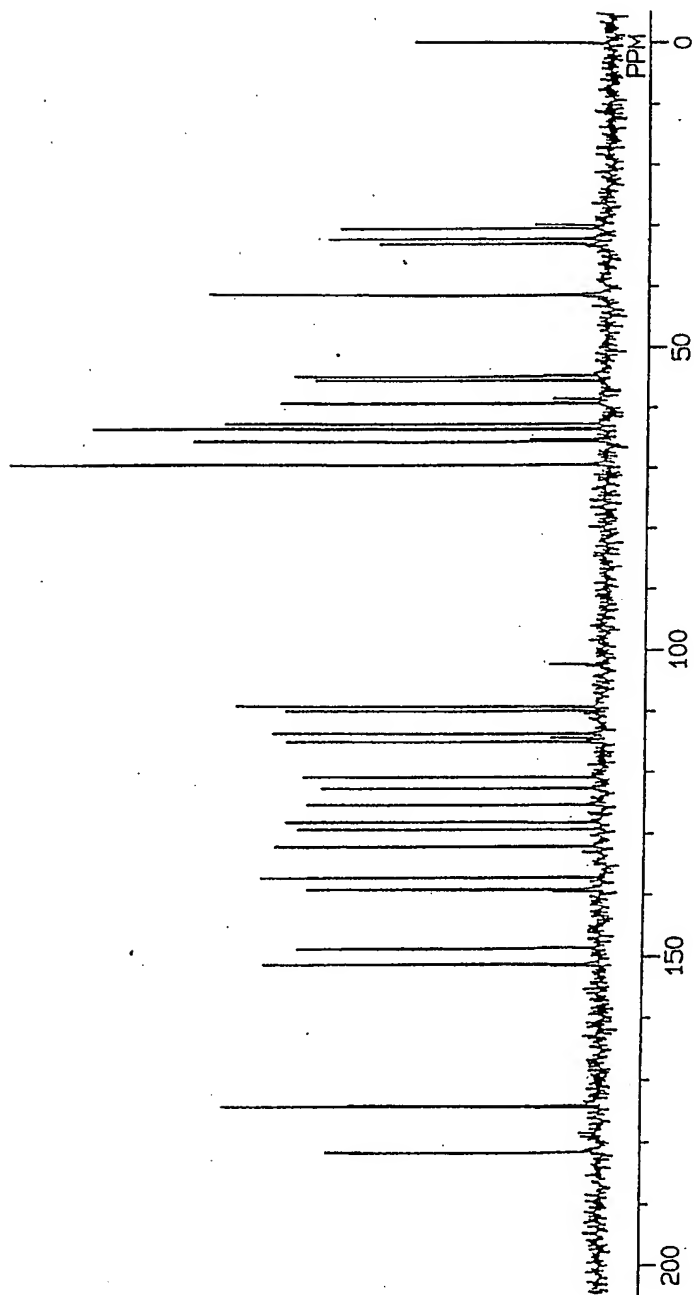
9 / 14

☒ 9



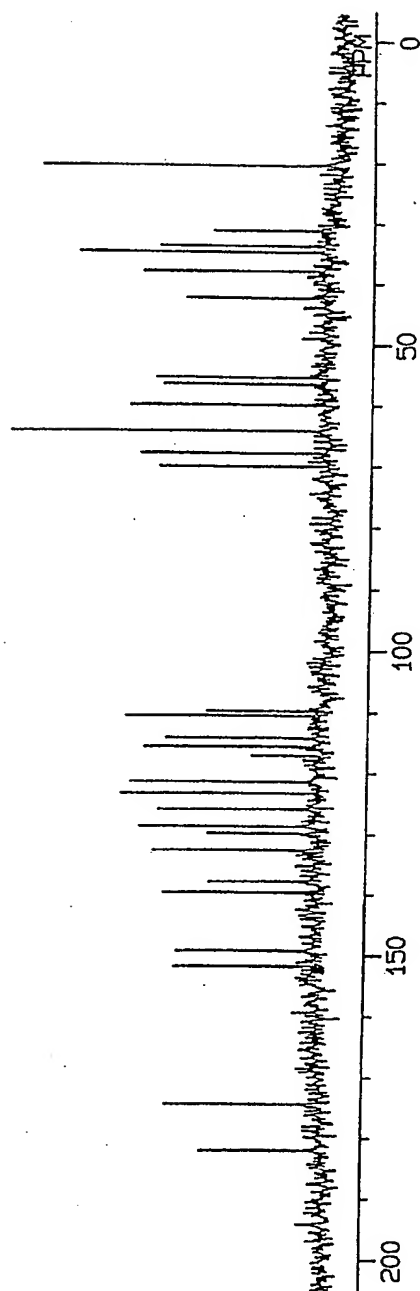
10 / 14

☒ 10



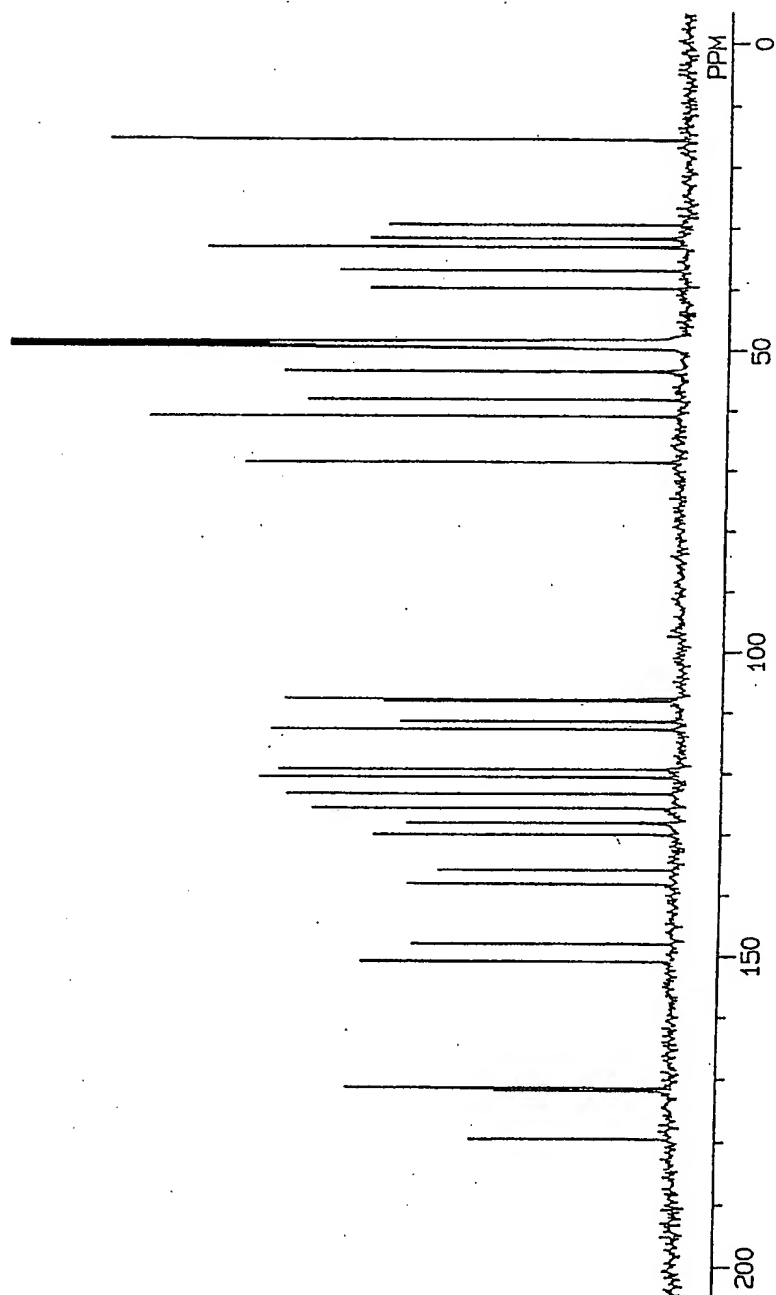
11 / 14

☒ 11



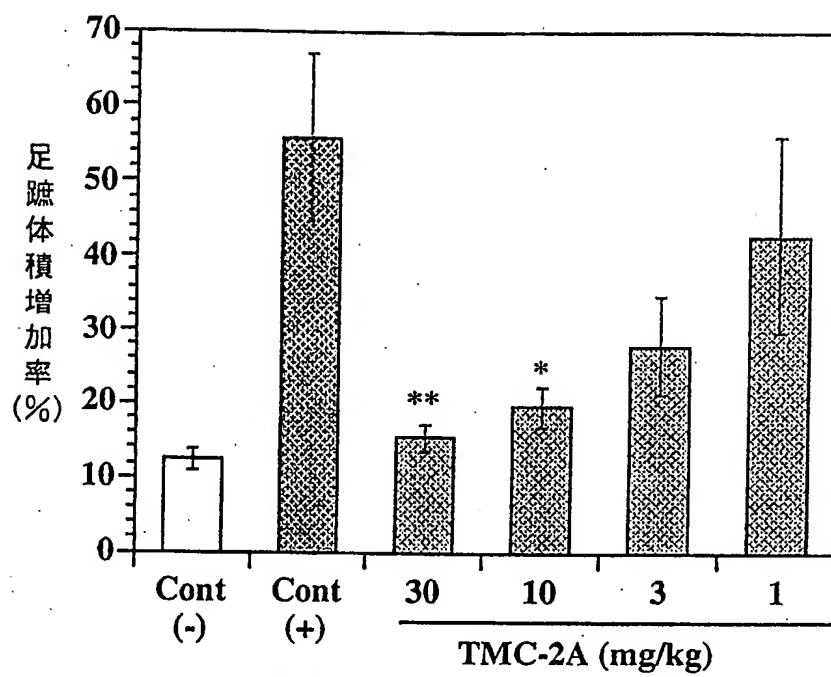
12 / 14

☒ 12



13/14

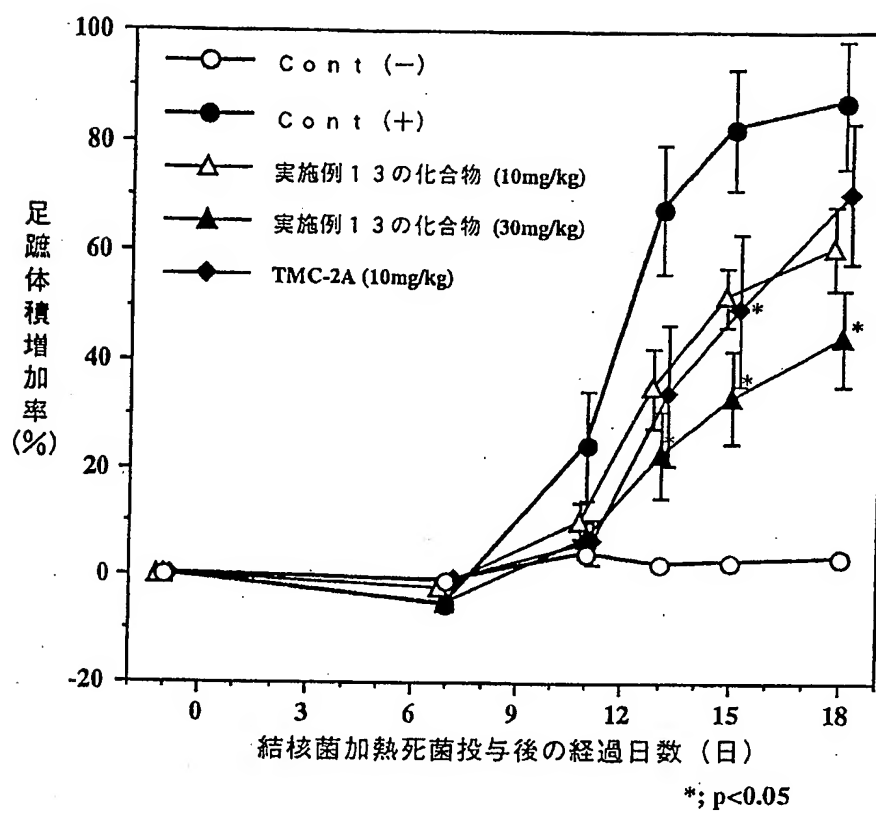
図 13



* ; p<0.05, ** ; p<0.01

14 / 14

図 14



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP97/03804

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER Int. C1⁶ C07D217/26, C07K5/065, 5/068, 5/078, 5/097, C12P21/02, A61K31/47, 38/55, 38/06, 38/05 // (C12P21/02, C12R:66)

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) Int. C1⁶ C07D217/26, C07K5/065, 5/068, 5/078, 5/097, C12P21/02, A61K31/47, 38/55, 38/06, 38/05 // (C12P21/02, C12R:66)

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CA (STN), REGISTRY (STN)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	JP, 63-203698, A (Adir et Co.), August 23, 1988 (23. 08. 88),	1-9, 11-21, 24, 25
Y	Refer to page 6 & EP, 282374, A & US, 4965250, A	10, 22
X	WO, 91/12266, A (Fujisawa Pharmaceutical Co., Ltd.),	1-9, 11-21, 24, 25
Y	August 22, 1991 (22. 08. 91), Refer to page 1; Examples & US, 5321032, A	10, 22

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

December 18, 1997 (18. 12. 97)

Date of mailing of the international search report

January 7, 1998 (07. 01. 98)

Name and mailing address of the ISA/

Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP97/03804

Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.: 26 - 35
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
They pertain to methods for treatment of the human body by therapy.
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl.⁸ C07D217/26, C07K5/065, 5/068, 5/078, 5/097, C12
P21/02, A61K31/47, 38/55, 38/06, 38/05// (C12P21
/02, C12R:66)

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl.⁸ C07D217/26, C07K5/065, 5/068, 5/078, 5/097, C12
P21/02, A61K31/47, 38/55, 38/06, 38/05// (C12P21
/02, C12R:66)

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

CA (STN)、REGISTRY (STN)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X Y	JP, 63-203698, A (アディール エ コンパニー)、23. 8月. 198 8 (23. 08. 88)、第6頁参照。&EP, 282374, A&US, 4965 250, A	1-9, 11-21, 24, 25 10, 22
X Y	WO, 91/12266. A (藤沢薬品工業株式会社)、22. 8月. 1991 (2 2. 08. 91)、第1頁及び実施例参照。&US, 5321032, A	1-9, 11-21, 24, 25 10, 22

☐ C欄の続きにも文献が列挙されている。

☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの

「E」 先行文献ではあるが、国際出願日以後に公表されたもの

「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)

「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献

「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

18. 12. 97

国際調査報告の発送日

07.01.98

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号100

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

佐野 整 博



4C

7019

電話番号 03-3581-1101 内線 3452

第 I 欄 請求の範囲の一部の調査ができないときの意見 (第 1 ページの 1 の続き)

法第 8 条第 3 項 (PCT 17 条(2)(a)) の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

1. ☒ 請求の範囲 26-35 は、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。
つまり、
人の治療による処置方法である。
2. ☐ 請求の範囲 _____ は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、
3. ☐ 請求の範囲 _____ は、従属請求の範囲であって PCT 規則 6.4(a) の第 2 文及び第 3 文の規定に従って記載されていない。

第 II 欄 発明の単一性が欠如しているときの意見 (第 1 ページの 2 の続き)

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるとこの国際調査機関は認めた。

1. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求の範囲について作成した。
2. ☐ 追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求の範囲について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。
3. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求の範囲のみについて作成した。
4. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求の範囲について作成した。

追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

- ☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあった。
☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがなかった。

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☒ FADED TEXT OR DRAWING
- ☐ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☒ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☐ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.